

Année 1976 N° 194

**DEPISTAGE NEONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE
PAR L'ETUDE
DES PROTEINES MECONIALES
GRACE AU BM TEST**

**RÉSULTATS D'UNE PREMIÈRE ENQUÊTE
PORTANT SUR 27487 NOUVEAU-NÉS**

THÈSE

présentée

**à l'Université Claude Bernard de LYON
et soutenue publiquement le 26 mai 1976
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine**

par

**MIERAL Claude épouse DUCOS
née le 10 janvier 1947 à Lyon (Rhône)**

Année 1976 N° 194

**DEPISTAGE NEONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE
PAR L'ETUDE
DES PROTEINES MECONIALES
GRACE AU BM TEST**

**RÉSULTATS D'UNE PREMIÈRE ENQUÊTE
PORTANT SUR 27487 NOUVEAU-NÉS**

THÈSE

présentée

**à l'Université Claude Bernard de LYON
et soutenue publiquement le 26 mai 1976
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine**

par

**MIERAL Claude épouse DUCOS
née le 10 janvier 1947 à Lyon (Rhône)**

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF LEIDEN

1955

DEPISTAGE MEDICAL DE LA MUCOVISCIDOSE
PAR L'ETUDE
DES PROTEINES RESIDUELLES
GRACE AU BIU 121

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF LEIDEN



1955

1955

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF LEIDEN

1955

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF LEIDEN

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1 -

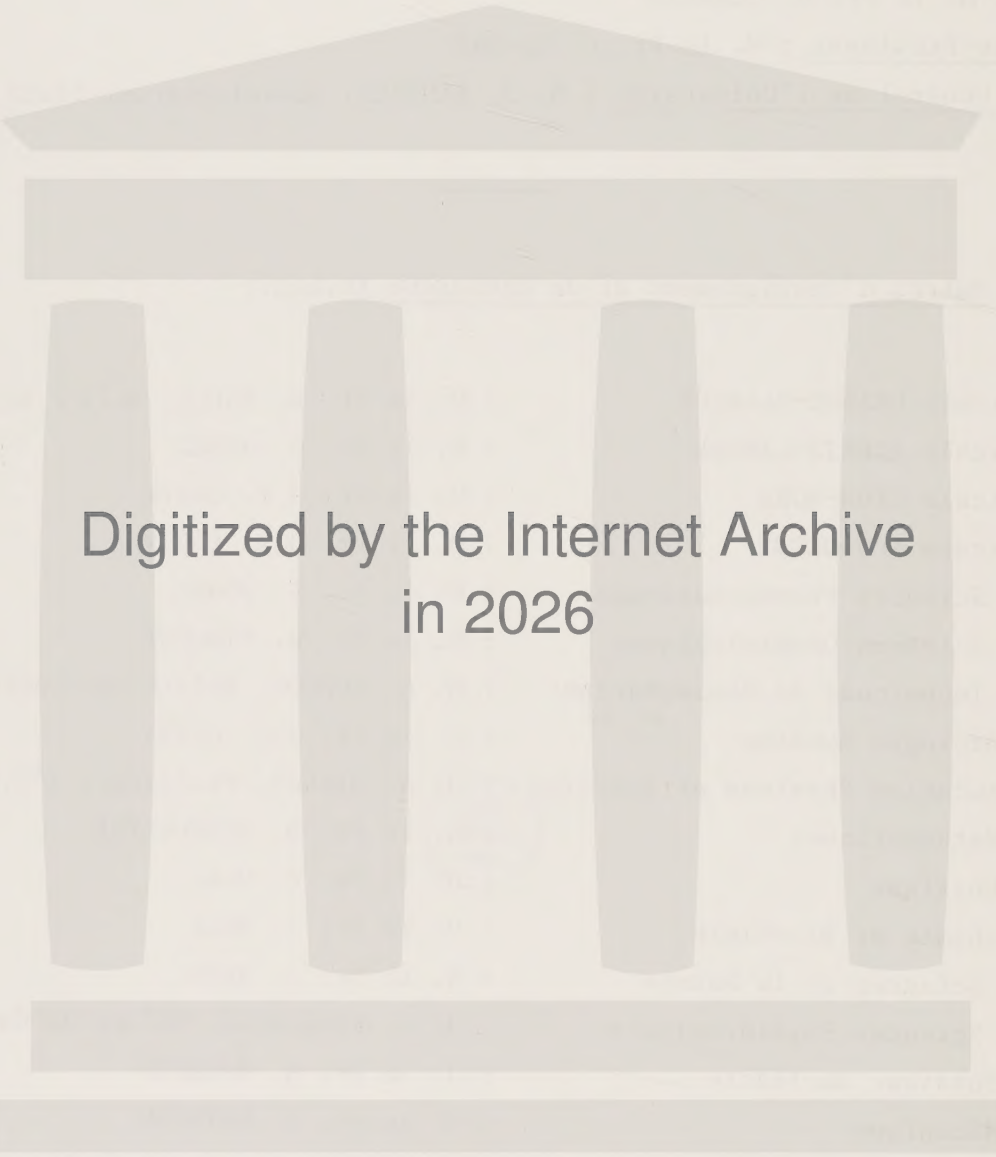
Président : M. le Pr. D. GERMAIN

Premier Vice-Président : M. le Pr. E. EL-BAZ

Secrétaire Général de l'Université : M. J. RAMBAUD, administrateur civil

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R.)

U.E.R. Médicale GRANGE-BLANCHE	: M. le Dr. B. SALLE, Maître de Conférences
U.E.R. Médicale ALEXIS-CARREL	: M. le Pr. C. GIROD
U.E.R. Médicale LYON-NORD	: M. le Pr. J.P. GARIN
U.E.R. Médicale SUD-OUEST	: M. le Pr. J.M. ROBERT
U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques	: M. le Pr. L. ODOUX
U.E.R. des Sciences Odontologiques	: M. le Pr. R. VINCENT
U.E.R. des Techniques de Réadaptation	: M. A. MORGON, Maître de Conférences
U.E.R. de Biologie Humaine	: M. le Pr. J.C. CZYBA
U.E.R. d'Education Physique et Sportive	: M. A. MILLON, Professeur d'E.P.S.
U.E.R. de Mathématiques	: M. le Pr. H. BUCHWALTER
U.E.R. de Physique	: M. le Pr. R. UZAN
U.E.R. de Chimie et Biochimie	: M. le Pr. J. HUET
U.E.R. des Sciences de la Nature	: M. le Pr. J. BRUN
U.E.R. des Sciences Physiologiques	: M. R. FONTANGES, Maître de Conférences
U.E.R. de Physique Nucléaire	: M. le Pr. A. SARAZIN
U.E.R. de Mécanique	: M. le Pr. J. MATHIEU
Observatoire de Lyon	: M. MIANES, Directeur Intérimaire
I.U.T. 1	: M. le Pr. B. POUYET
I.U.T. 2	: M. J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Jacques,

A ma Fille Axelle,

A ma Mère,

Puisse-t-elle accepter ce travail comme
un remerciement à sa tendresse et à tous
les sacrifices qu'elle s'est imposés
afin que nous arrivions à ce jour.

A mon Père,

A ma Soeur Annick et mon Frère Patrick,

A tous mes Amis.

COMPOSITION DU JURY

Monsieur le Professeur Agrégé	R. GILLY
Monsieur le Professeur Agrégé	J. ROBERT
Monsieur le Professeur Agrégé	M. HERMIER
Monsieur le Professeur Agrégé	A. REVOL

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur Robert GILLY

Il nous a confié ce travail, sans nous connaître et nous espérons ne pas l'avoir déçu.

Nous avons souvent eu besoin de ses conseils éclairés, et malgré ses multiples activités, nous avons toujours trouvé auprès de lui la compréhension et l'aide dont nous avions besoin.

Sa puissance de travail fut un modèle pour nous.

Qu'il trouve ici l'assurance de notre profonde admiration.

A nos Juges

Monsieur le Professeur Agrégé J. ROBERT

Nous le remercions d'avoir accepté de
siéger parmi nos juges. Nous le prions
de trouver ici la marque de notre
respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur Agrégé M. HERMIER

Nous lui sommes reconnaissants d'avoir
bien voulu juger ce travail qui nous a
permis d'apprécier l'étendue de ses
connaissances.

Nous le remercions de nous avoir toujours
accueillis avec compréhension.

Monsieur le Professeur Agrégé A. REVOL

Son aide nous a été précieuse dans la
réalisation de ce travail.
Qu'il veuille bien trouver ici la marque
de notre respectueuse reconnaissance.

A Messieurs les Chefs de Service des Maternités
de LYON et de la région,

Ils nous ont accueillis dans leur Service
et nous ont permis de réaliser cette
enquête.

Leur aide nous fut précieuse et nous les
en remercions.

A Mesdames les Infirmières et Sage-Femmes des
Maternités de LYON et de la région,

Nous avons apprécié leur accueil
chaleureux à chacune de nos nombreuses
visites.

Nous les remercions de leur précieuse
collaboration.

A Mademoiselle I. GARCIA, Biologiste Adjointe
et Mademoiselle D. PERIAT, Attachée de Biologie,

Leur aide efficace nous a permis de
mener à bien ce travail.

Nous les remercions pour tout le temps
qu'elles nous ont consacré.

A tous mes Amis de l'Hôpital Sainte-Eugénie .

Nous remercions le Laboratoire BOEHRINGER-MANNHEIM .

Plan

I. INTRODUCTION

	<u>Pages</u>
1. <u>Rappel historique de la maladie</u>	1
2. <u>La mucoviscidose, sa fréquence, sa gravité</u>	2
3. <u>La mucoviscidose est une maladie héréditaire</u>	8
3.1. Le caractère familial de l'affection	
3.2. La fréquence des hétérozygotes	
3.3. Le dépistage des hétérozygotes	
4. <u>Nécessité d'un dépistage</u>	16
5. <u>Les screenings proposés (énumération)</u>	20

II. LES PROTÉINES DU MÉCONIUM

1. <u>Evolution des connaissances</u>	21
2. <u>Les méthodes d'étude des protéines méconiales</u>	24
2.1. Méthodes qualitatives	
2.2. Méthodes quantitatives	
3. <u>Composition protéique du méconium: données actuelles</u>	28
3.1. Les valeurs protéiques	
3.2. Choix de la limite à 20 mg/g d'albumine	
3.3. Le rapport $R = \text{albumine} / \alpha_1 \text{ antitrypsine}$	

III. NOTRE ENQUÊTE

1.	<u>Le BM test constitue une méthode de screening</u>	31
2.	<u>La réalisation du BM test est simple</u>	33
2.1.	Principe	
2.2.	Matériel	
2.3.	Réalisation	
2.4.	Résultat, lecture	
2.5.	Conditions techniques d'une bonne réalisation	
3.	<u>Organisation de l'enquête</u>	42
3.1.	Présentation de l'enquête	
3.2.	Méthodologie dans les Maternités	
4.	<u>Difficultés rencontrées au cours de l'enquête</u>	48
4.1.	Implantation de l'enquête dans les Maternités	
4.2.	Conservation des tests à la Maternité	
4.3.	Récupération du méconium pour le test	
4.4.	Réalisation du BM test	
4.5.	Interprétation du résultat	
4.6.	Recueil du méconium pour un contrôle Problème de la conservation	

IV. RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE

1.	<u>Les résultats du BM test à la Maternité</u>	62
1.1.	Les Maternités de LYON: population, nombre de tests effectués, nombre de tests positifs	
1.2.	Les Maternités périphériques	
1.3.	Résultats globaux	

2.	<u>Les résultats du Laboratoire</u>	66
2.1.	Généralités	
2.2.	Nombre de méconiums suspects adressés au Laboratoire	
2.3.	Le BM test de contrôle effectué sur les méconiums suspects	
2.4.	Les résultats de l'électrophorèse des protéines	
2.5.	Les résultats de l'immunodiffusion radiale	
2.5.1.	Dosage de l'albumine méconiale	
2.5.2.	Dosage de l' α_1 antitrypsine et étude de R	
3.	<u>Les résultats de l'enquête clinique</u>	78
3.1.	Généralités	
3.2.	L'examen clinique	
3.3.	Les résultats de l'examen clinique	
4.	<u>L'enquête rétrospective</u>	80
5.	<u>Conclusion</u>	81

V. DISCUSSION OU COMMENTAIRES

1.	<u>Résultats des autres auteurs</u>	83
2.	<u>Les résultats faussement positifs</u>	93
2.1.	Les causes générales	
2.1.1.	Technique d'exécution	
2.1.2.	Lecture difficile	

2.2.	Les causes liées à une augmentation de l'albumine	
2.2.1.	Les prématurés	
2.2.2.	Présence d'un moelena néonatal	
2.2.3.	Les causes intestinales	
2.2.4.	Sans cause connue	
3.	<u>Les tests faussement négatifs</u>	102
3.1.	Les cas de la littérature	
3.2.	Les raisons	
4.	<u>Origine des protéines méconiales</u>	105
4.1.	Le méconium	
4.2.	Les théories	
5.	<u>Avantages et inconvénients d'un screening</u>	109
5.1.	Les inconvénients	
5.2.	Les avantages	
6.	<u>Les screenings proposés</u>	112
6.1.	Le test de la sueur	
6.2.	Le dosage de l'ion Na par activation neutronique dans les ongles	
6.3.	Le dosage de l'ion Na dans la salive	
6.4.	Etude de la trypsine et de la chymotrypsine dans les selles	
6.5.	Autres méthodes qualitatives d'étude de l'albumine méconiale	
6.6.	Etude des propriétés électriques du jejunum de rat en présence de sérum	

7. <u>Etude du coût d'un screening par le BM test</u>	120
---	-----

<u>VI. CONCLUSIONS</u>	122
------------------------	-----

BIBLIOGRAPHIE

I Introduction

1. RAPPEL HISTORIQUE DE LA MALADIE

La mucoviscidose est l'une des maladies chroniques familiales graves les plus fréquentes chez l'enfant.

Sa connaissance remonte au début de ce siècle.

En 1905, LANDSTEINER (82) note la fréquence des lésions pancréatiques associées à des occlusions méconiales néonatales: il propose le terme de "fibrose kystique du pancréas" (FKP).

FANCONI (37) isole en 1936 cette entité du large syndrome des "malabsorptions".

Dorothy ANDERSEN (1) (1938) confirme ces données, montre la fréquence de cette maladie et son polymorphisme clinique.

Les travaux de FARBER (39) (1942) et SHWACHMAN permettent de développer le concept de maladie générale (et non plus strictement pancréatique) de type exocrinopathie muqueuse.

Les termes de mucose et mucoviscidose sont proposés.

En 1949, SHWACHMAN propose un essai de diagnostic par l'étude de l'activité trypsique des selles.

Di SANT'AGNESE montre en 1953 (32) l'existence d'une anomalie spécifique de la sueur chez les sujets atteints; cette découverte permet la mise au point d'un test de diagnostic chez l'enfant vivant.

2. LA MALADIE, SA FRÉQUENCE, SA GRAVITÉ

2.1. La mucoviscidose est une maladie chronique complexe, de pathogénie encore imprécise, dont la symptomatologie la plus apparente s'exprime au niveau de nombreux organes: pancréas, intestin, bronches, foie, coeur, organes génitaux, l'atteinte bronchique étant la plus fréquente et la plus grave.

2.2. L'étude de sa fréquence fait l'objet de nombreux travaux mondiaux (Tableau n° 1). Cette fréquence oscille selon les pays entre 1/1 500 et 1/3 000 naissances vivantes.

Ce chiffre met la mucoviscidose au premier rang des maladies chroniques de l'enfant: elle est aussi fréquente que la myopathie (1/2 000 à 1/3 000), 10 fois plus que la phénylcétonurie (1/20 000).

En 1969, GILLY et collaborateurs (52) réalisent une étude génétique de la mucoviscidose dans la région lyonnaise. Cette étude porte sur l'analyse de 273 familles dont 1 enfant au moins est atteint de mucoviscidose. Deux méthodes de calcul sont utilisées: la méthode de STEINBERG et la méthode du comptage direct; leurs résultats, corrigés par la méthode statistique "du maximum de vraisemblance", permettent d'avancer pour le département du Rhône une incidence de la maladie de 1/1 673 à 1/2 008 naissances vivantes, ce qui est légèrement supérieur aux résultats mondiaux publiés à cette date.

FEINGOLD et coll. (42) présentent en 1974 des résultats pour la région du Finistère: la fréquence de la maladie est de 1/1 787 naissances vivantes avec la méthode de comptage direct, 1/2 083 avec la méthode indirecte. L'étude porte sur 296 familles et 34 cas de mucoviscidose.

Tous les chiffres cités sont valables pour la race blanche d'origine caucasienne; la maladie semble épargner relativement les races jaunes et noires: elle est 10 fois moins fréquente chez les Américains noirs que chez les blancs.

Tableau n° 1

FREQUENCE DE LA MUCOVISCIDOSE			
AUTEURS		PAYS	FREQUENCE
GOODMAN-REED	1952	U.S.A.	1/1 000 à 1/4 000
BAUMAN	1958	SUISSE	1/1 400
STEINBERG	1960	U.S.A. (Ohio)	1/3 700
BERNHEIM	1961	FRANCE (Lyon)	1/3 200
SELANDER	1962	SUEDE	1/8 000
HOUSTECK	1967	TCHECOSLOVAQUIE	1/2 600
DANKS	1965	AUSTRALIE	1/2 500
CARTER	1966	IRLANDE	1/3 000
WRIGHT-MORTON	1968	HAWAI	Blancs: 1/3 800 Métisses: 1/90 000
VIVEL	1970	R.F.A.	1/3 300
GILLY	1969	FRANCE (Lyon)	1/2 000
BOZKOWA	1971	POLOGNE	1/900 à 1/2 500
BRUNECKY	1972	TCHECOSLOVAQUIE	1/3 300
CAIN, DEALL	1972	GRANDE-BRETAGNE	1/3 000
CONNALLY	1973	U.S.A. (Indiana)	1/2 020 à 1/3 374
MIGLIORI	1973	ITALIE	1/1 100 à 1/3 500
FEINGOLD	1974	FRANCE (Finistère)	1/2 024
PROSSER	1974	GRANDE-BRETAGNE	1/1 850
DIETZSCH	1975	R.D.A.	1/2 000
SUPER	1975	AFRIQUE DU SUD	1/646
KAISER	1976	SUISSE	1/1 675
PROSSER	1976	GRANDE-BRETAGNE	1/1 654

2.3. La mucoviscidose est une affection très grave dont l'issue était toujours fatale il y a 30 ans.

De nombreux auteurs ont étudié l'évolution de la maladie.

-1958- Pour BAUMAN (Suisse) (3): 80 % des enfants atteints meurent avant l'âge de 2 ans.

-1962- KRAMM (USA) (81): 65 % des enfants meurent avant l'âge de 10 ans.

-1970- HUANG (USA) (67) étudie l'évolution de ses malades en les groupant par tranches d'âge de 5 ans. Il donne les résultats suivants:

- . de 1952 à 1957: la mortalité est de 65 %,
- . de 1957 à 1962: la mortalité est de 36 %,
- . de 1962 à 1967: la mortalité est de 24 %.

Ces différents taux de mortalité sont peu comparables, car il s'agit de groupes d'enfants différents.

-1969- WARWICK (USA) (139) étudie la répartition de la mortalité en fonction de l'âge (années 1966-1967).

Tranches d'âge	Mortalité	Sexe
0 - 1 an	11,8 %	G = F
1 - 6 ans	4,4 %	G = F
7 - 12 ans	6,6 %	G = F
13 - 18 ans	6,9 %	G = F
19 - 24 ans	16,8 %	G < F 9,9% 29,8%

Cependant, toutes ces statistiques sont contestables dans la mesure où elles n'étudient qu'un seul élément: le décès de l'enfant; l'état des survivants n'est jamais précisé.

- SHWACHMAN (USA) (122) rassemble en 1970 les 130 cas de mucoviscidose diagnostiqués pendant une période de 20 ans (1949-1969), le diagnostic étant porté avant l'âge de 3 mois. Cette étude tient compte de l'état des malades au moment du diagnostic et du degré d'évolution de la maladie.

- Circonstances du diagnostic:

63 cas: diagnostic avant tout symptôme (= A)
13 cas: diagnostic avec signes bénins (= B)
54 cas: diagnostic avec signes évidents (= C)

- Evolution de la maladie:

. 29 cas sont décédés soit 22 %, dont 14 % parmi les groupes A et B, 33 % parmi le groupe C;
. 101 cas survivants:
14 en excellent état,
13 en état grave,
74 en état satisfaisant (de 1 à 33 ans).

En 1971, GEORGE et NORMAN (49) établissent des "Tables de vie" et comparent les taux de survivants entre les périodes 1943-1964 et 1964-1968.

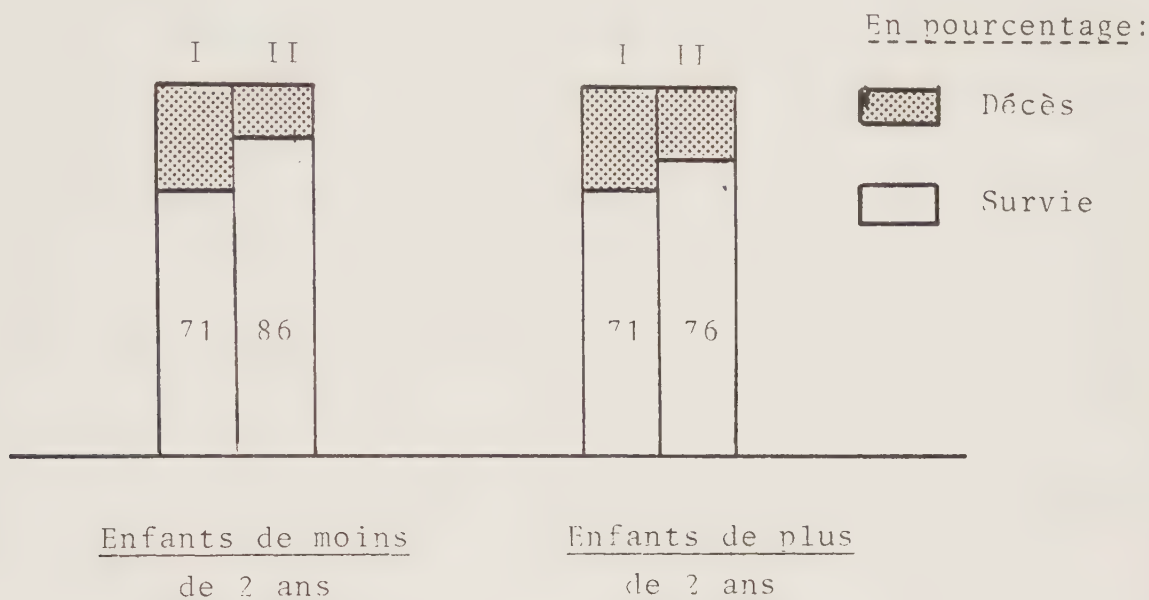
Dans la seconde période, 60 % des malades ne présentant pas d'iléus néonatal atteignent l'âge de 16 ans.

En 1973, HARTEMAN (61) expose les résultats obtenus dans le Centre de soins de GIENS pendant une période de 10 ans. Il compare 2 populations d'enfants malades:

- 125 enfants entrés dans le Service de 1964 à 1967 (groupe I),
- 151 enfants entrés dans le Service de 1967 à 1969 (groupe II).

Les taux de survie de plus de 3 ans sont respectivement 71 et 82 %.

Bien qu'on ne puisse pas affirmer la valeur significative de ces chiffres, il existe une différence de survie selon l'âge: chez les enfants de moins et de plus de 2 ans:



Il semble donc que l'amélioration du taux de survie est bien due à l'amélioration de l'efficacité thérapeutique (après 1967), et ceci particulièrement pour les nourrissons admis avant l'âge de 2 ans. Pour les enfants plus âgés, l'amélioration plus modeste des résultats s'explique par le caractère fixé et irréversible des lésions pulmonaires.

En 1972, sur 372 enfants vivants d'âge moyen inférieur à 8 ans, les estimations cliniques sont (61):

- . 20 % d'enfants vont très bien,
- . 33 % d'enfants vont très mal,
- . 47 % d'enfants évoluent par poussées.

HOGGER (66) étudie en 1975 l'amélioration du taux de survie des malades atteints de mucoviscidose dans la période 1962-1974.

Un groupe de 42 malades n'avait pas reçu de traitement prophylactique (avant 1967), l'autre groupe de 32 malades avait été traité.

Après 3 ans de traitement, le taux de survie est de 73 % contre 57 % dans le premier groupe.

3. LA MUCOVISCIDOSE EST UNE MALADIE HÉRÉDITAIRE

3.1. Le caractère familial de l'affection est reconnu en 1944 par FANCONI et BOTSZTEIN (36); son mode de transmission autosomique récessif en 1949 par LOWE, MAY, REED (87).

La fréquence du gène est comprise entre 1/40 et 1/44. Or, cette maladie qui est spontanément létale, se maintient dans la population blanche à un taux de fréquence qu'il n'est pas possible d'expliquer par les seules mutations, ou même par l'existence d'un avantage biologique accordé aux hétérozygotes (résistance accrue vis à vis de certaines affections ou taux de reproduction plus élevé que normalement).

De plus, ce schéma classiquement admis ne permet pas d'expliquer certains faits:

- le faible taux de consanguinité au sein des familles,
- le polymorphisme clinique de la maladie,
- le polymorphisme biologique mis en évidence par

DANES et BEARN (25).

WALBAUM (138) propose en 1972 un schéma de polyallélisme comportant au niveau du locus présumé de la mucoviscidose un certain nombre d'allèles:

- l'allèle normal dominant,
- ou l'une des formes d'une série d'allèles récessifs.

Ces allèles récessifs se manifestent soit à l'état homozygote, soit à l'état "double hétérozygote" pour lesquels on peut imaginer un phénotype intermédiaire entre celui des deux homozygotes correspondants.

La confirmation d'un tel schéma n'est pas encore possible, aussi raisonnons-nous dans le cadre d'une transmission autosomique récessive monogénique normale.

Le gène anormal n'a une expression au niveau du phénotype que lorsqu'il est présent en double dose. L'individu malade est donc homozygote pour le trait. Ses parents, tous deux hétérozygotes, lui ont transmis chacun un chromosome porteur du gène anormal; leur phénotype est normal et ils ne sont pas malades.

3.2. La fréquence des hétérozygotes pour le gène de la mucoviscidose au sein de la population générale est de $1/20$ à $1/22$, soit environ 5 % de la population, 2,5 millions de sujets en France (GILLY) (51).

Le risque pour l'enfant né de l'union de 2 hétérozygotes d'être porteur de la tare en double dose est de $1/4$. On comprend l'importance extrême d'un dépistage de ces hétérozygotes.

3.3. Malheureusement, ce dépistage est encore pratiquement impossible. L'absence de tout signe clinique particulier aux hétérozygotes obligatoires que sont les parents des enfants malades, conduit à rechercher un critère biologique.

Diverses méthodes biologiques sont proposées:

3.3.1. Le dosage des électrolytes sudoraux

Di SANT'AGNESE (32) observe au début de ses travaux une teneur moyenne en électrolytes significativement plus élevée chez les hétérozygotes que sur une population témoin.

Cette opinion, récusée par SHWACHMAN, est confirmée statistiquement par SPROUL et HUANG (125).

Cependant, cette méthode détermine une moyenne statistique; elle n'est pas applicable valablement à l'échelon individuel.

3.3.2. L'étude du brome sudoral et l'index brome
après une charge orale en bromure de sodium:

Pour SZCZEPANSKI (135), le rapport du brome sudoral et du brome sérique permettrait de différencier:

- les homozygotes : $62,1 \pm 27,1$
- les témoins : $7,7 \pm 3,7$
- les hétérozygotes : $30,5 \pm 7,5$

Les études sont encore en cours.

3.3.3. Le dosage des électrolytes (sodium) dans
la salive, les ongles, les cheveux:

L'excès d'électrolytes peut éventuellement constituer un signe biologique d'hétérozygotisme, mais ce trouble n'est ni assez constant, ni assez important pour permettre un dépistage.

3.3.4. L'étude des cultures de fibroblastes obtenues
à partir de biopsies de peau ou de leucocytes:

- En 1968, DANES et BEARN (24) montrent la présence de granulations métachromatiques dans les fibroblastes de sujets malades et de leurs parents.

Ils doivent admettre un an plus tard que cette métachromasie n'est pas retrouvée dans tous les cas de mucoviscidose et qu'on doit distinguer 3 types de métachromasie:

Type III: sans métachromasie,

Type II : avec granulations vésiculaires,

Type I : avec granulations et vésicules diffuses.

Cette métachromasie n'est pas spécifique puisqu'elle peut être mise en évidence dans les cellules d'enfants atteints de mucopolysaccharidose, et qu'elle dépend des conditions de culture: âge de la culture, nombre de repiquages, type de milieu utilisé.

- Ces mêmes auteurs étudient en 1969 la teneur en mucopolysaccharides dans les fibroblastes.

Ils observent une augmentation de la synthèse des mucopolysaccharides chez les homozygotes et hétérozygotes pour la mucoviscidose: ces mucopolysaccharides sont sécrétés dans le milieu de culture, alors qu'ils restent intra-cellulaires dans les cas de mucopolysaccharidose (26).

DANES et coll. (23) étudient en 1974 les mucopolysaccharides dans les lymphocytes. Il n'y a pas d'augmentation de la quantité des mucopolysaccharides totaux, mais ils observent une modification de la répartition des mucopolysaccharides à l'électrophorèse:

- . chez les homozygotes: augmentation des dermatan sulfates (30 %),

- . chez les hétérozygotes, cette augmentation est moins marquée (24 %).

Ces résultats sont contestés par WELCH (141) qui, étudiant l'incorporation du $[^{35}\text{S}]$ sulfaté et de $[^3\text{H}]$ glucosamine dans les fibroblastes en culture n'a pas observé d'augmentation de la synthèse des glycosamino glycans.

- Recherche de déficit en enzymes lysosomiales telles que phosphatase acide, arylsulfatase, bêta-galactosidase, bêta-glycuronidase.

L'étude de la bêta-glycuronidase est effectuée sur:

- . les fibroblastes cutanés: activité enzymatique normale;

- . les lymphocytes en présence de phytohémagglutinine:

l'activité des hétérozygotes est intermédiaire entre celle des homozygotes (basse) et des témoins.

- Trouble de méthylation de l'ARN de transfert:

RENNERT (106) constate une diminution de la méthylation du t-RNA dans les lymphocytes de sujets homozygotes et hétérozygotes obligatoires (parents de malades).

La mesure de la méthylation sur des lymphocytes en culture permettrait la détection rapide des hétérozygotes, et éventuellement la recherche de l'affection in utero.

Ces résultats sont actuellement très contredits (74).

3.3.5. L'activité de la kallicréine du sérum

On observe une diminution de l'activité "trypsine like" assimilée à l'activité kallicréine au niveau de la salive. Cette activité a été étudiée dans le sérum d'enfants porteurs de mucoviscidose, de leurs parents et de témoins. (RAO -1972-) (102): des différences nettes sont notées.

Cependant, la possibilité d'application de ce test en tant que screening n'apparaît pas encore immédiate.

3.3.6. La mise en évidence de différents facteurs inhibiteurs

En 1967, SPOCK (124) met en évidence dans le sérum et la salive des sujets atteints de mucoviscidose un facteur qui inhibe et désorganise in vitro le fonctionnement des cils vibratils d'un épithélium de trachée de lapin mis en culture. Ce phénomène est retrouvé sur d'autres organismes ciliaires: huîtres (*Crassostrea virginica*), moules du type *Dreissensia polymorpha* (BOWMAN) (5). Il serait en rapport avec la présence d'une euglobine spécifique.

Malheureusement, les recherches de ce CCFF (Ciliary Cystic Fibrosis Factor) tant aux USA qu'en Europe sont très divergentes.

Certains de ses caractères sont bien connus:

- poids moléculaire inférieur à 10 000,
- existe dans le sérum des homozygotes et des hétérozygotes, ainsi que dans les milieux de culture constitués de cellules de sujets atteints,
- liaison aux globulines sériques, relation avec un des composants du complément.

Mais il n'est pas encore possible d'établir un dépistage fiable à l'aide de ce test des cils.

L'anomalie sudorale oriente vers un trouble primitif des membranes cellulaires: aucun déficit enzymatique n'a pu être mis en évidence au niveau des glandes sudoripares.

Reste l'hypothèse d'une substance véhiculée par le sang ou la sueur capable de modifier la perméabilité des membranes cellulaires.

MANGOS (91) isole en 1967 dans la sueur et la salive de mucoviscidose un facteur qui inhibe le transport du sodium.

KAISER (71) étudie en 1970 ce facteur sur les glandes sudoripares humaines.

DESJEUX et MORIN (31) isolent en 1970 dans la salive de mucoviscidose un facteur qui inhibe l'absorption de l'alanine par l'intestin grêle de rat.

BROWN (10) isole en 1971 dans le sérum des homozygotes un facteur qui inhibe le transport actif de l'arbutine au niveau du jejunum de rat. Cette inhibition est retrouvée à un moindre degré chez les hétérozygotes.

En 1973, CONOVER (19) propose une modification de la technique de SPOCK avec utilisation de trachée de lapin.

SHWACHMAN (121) publie en 1975 les premiers résultats d'une étude du sérum sur le jejunum de rat par mesure d'une différence de potentiel; cette méthode dépisterait 90 % des hétérozygotes et tous les patients malades.

Toutes les méthodes citées pour la recherche de facteurs inhibiteurs sont des méthodes biologiques. Elles ne semblent pas applicables à un programme de dépistage des hétérozygotes,

pas plus qu'à un diagnostic clinique de routine de la maladie ou à un diagnostic anténatal. Elles sont assez longues à réaliser, peu coûteuses mais réclament un personnel particulier et la fourniture de milieux d'études (tissus ciliaires, organes de culture).

3.3.7. L'électrofocalisation

WILSON (144) utilise en 1973 la technique d'électrofocalisation sur gels polyacrylamides en couche mince, pour l'étude de 3 séries de sérums: témoin, hétérozygote, mucoviscidose. Il isole une protéine "CF like factor" présente dans la plupart des sérums de sujets malades et hétérozygotes, et absente du sérum des sujets sains. Cette protéine semble avoir des particularités physico-chimiques communes avec les facteurs isolés par les autres auteurs.

WILSON (143) continue cette étude en 1975 sur 299 sérums (65 mucoviscidoses, 61 hétérozygotes, 105 sujets sains et 68 sujets porteurs de diverses maladies dont certaines ont des signes cliniques ressemblant à ceux de la mucoviscidose). Il établit les points suivants:

- les homozygotes et hétérozygotes se distinguent des sujets sains par la présence d'une bande protéinique correspondant au facteur CF;
- les hétérozygotes se distinguent des homozygotes par l'absence d'une bande B, C ou D;
- la présence ou non de ce facteur ainsi que l'absence ou non des bandes n'a aucune corrélation avec le sexe, l'âge du patient et la gravité de la maladie;
- ce facteur CF semble être spécifique de la maladie, sauf peut-être en cas de leucémie.

L'auteur pense ainsi obtenir une méthode de routine pour la détection des porteurs de mucoviscidose dans la population générale.

ATLAND (2) (1975) conclut lui aussi à la similitude entre le facteur mis en évidence par les méthodes d'électrofocalisation et l'électrophorèse sur disque, et le facteur de dyskinésie ciliaire.

4. NÉCESSITÉ D'UN DÉPISTAGE

Comme toute maladie métabolique héréditaire grave, la mucoviscidose pose le problème d'un dépistage systématique. L'impossibilité actuelle d'identifier les hétérozygotes limite ce dépistage à celui des homozygotes.

Quand faire ce dépistage ? "Le plus précocément possible", ce qui se justifie doublement par :

- l'importance de l'atteinte pulmonaire dans l'évolution de la maladie,
- et l'efficacité du traitement précoce.

A la naissance, l'appareil respiratoire est strictement normal tant sur le plan anatomique que fonctionnel, et sur les différents segments de ce tractus (trachée, bronches, bronchioles).

Il se constitue dès les premiers mois une "bronchite sécrétante" avec sécrétions bronchiques abondantes et épaisses, puis obstruction progressive des bronchioles puis des bronches.

Ainsi pour ROSSI (112) dans la majorité des cas, les premiers symptômes de la maladie (pulmonaires ou autres) apparaissent dans les 8 premières semaines de vie (Tableau n° 2).

M. MEARNS (92) note plus précisément que 60 % environ des enfants malades manifestent leurs premiers symptômes respiratoires entre 0 et 3 mois (Tableau n° 3).

La pathologie pulmonaire de la maladie s'installe alors avec ses bronchites, bronchopneumopathies, troubles de ventilation, pneumothorax, atélectasies récidivantes, et surinfections bactériennes où le Staphylocoque joue un grand rôle. 88 % des décès observés en 8 ans à l'Hôpital de GIENS sont dûs à l'atteinte pulmonaire (61).

Tout segment lésé représente un danger pour l'évolution ultérieure. Passé 12-18 mois, le risque d'atélectasie dans un territoire jusque là respecté paraît faible (HARTEMANN, CHAZALETTE, CHEVALIER) (61).

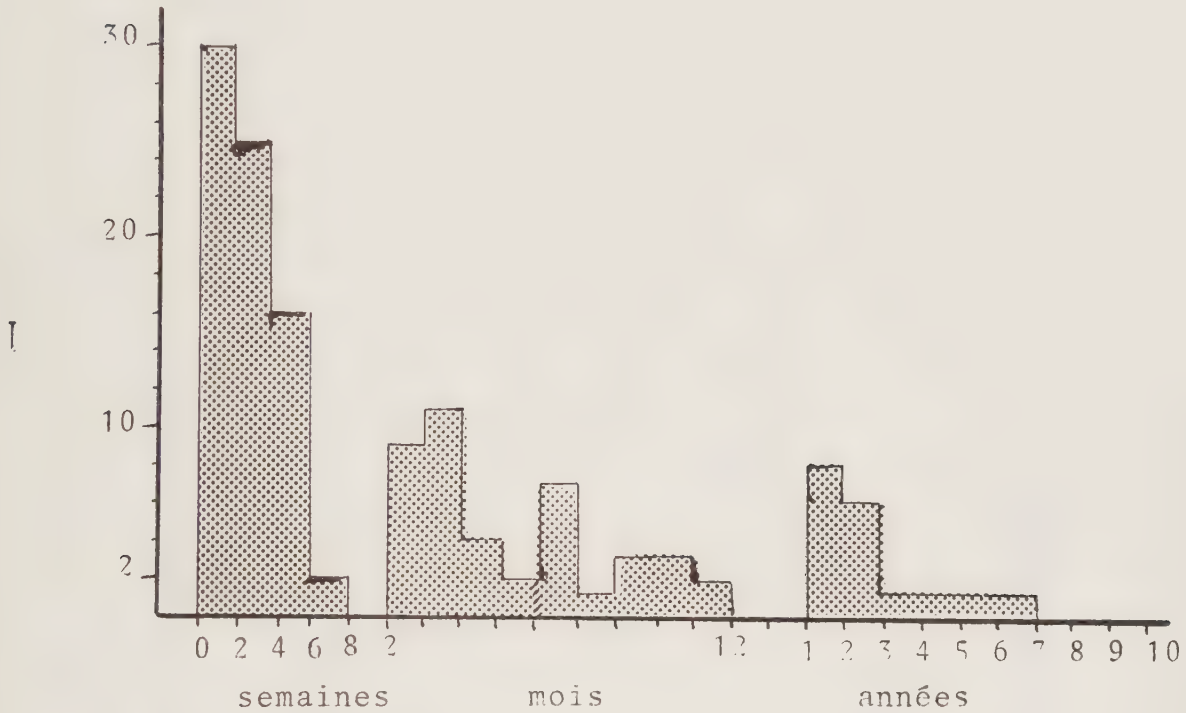
Tableau n° 2

I. Date d'apparition des premiers symptômes

II. Date du diagnostic

D'après ROSSI (1972) (112)

Nombre de
cas



Nombre de cas

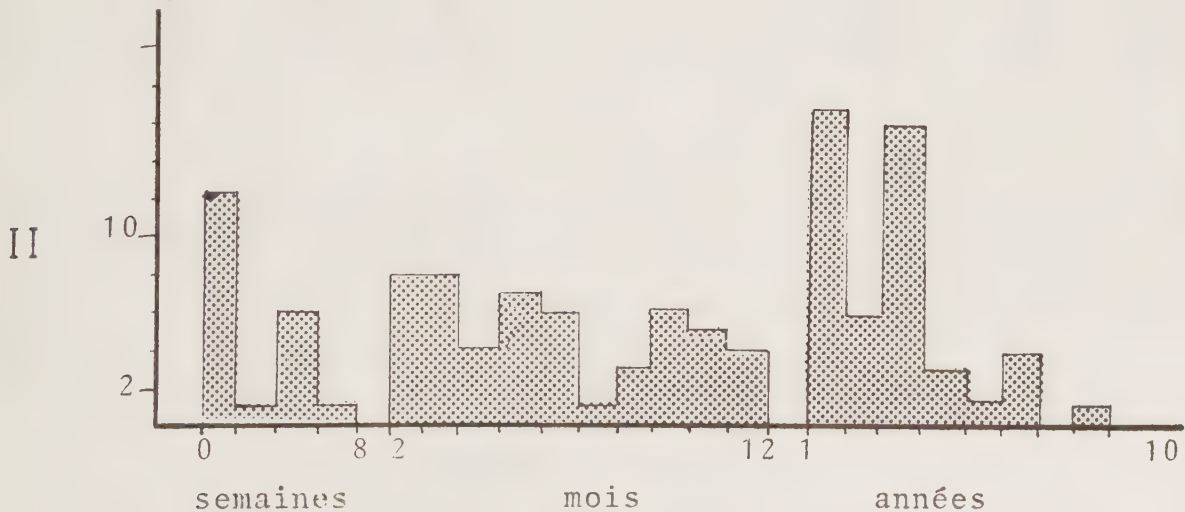
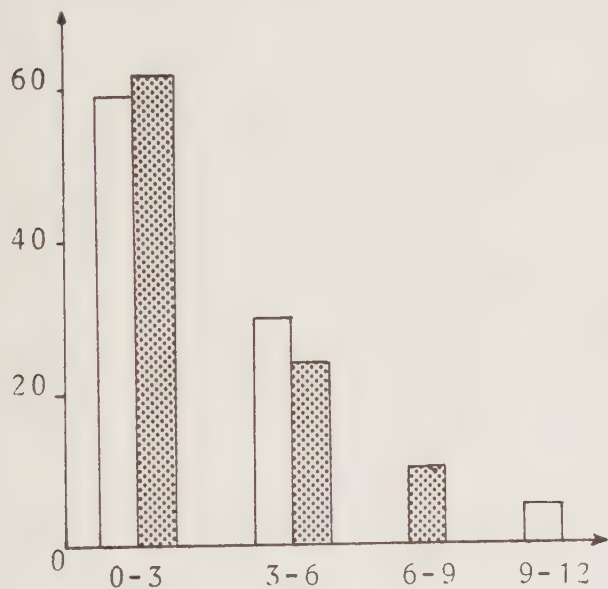


Tableau n° 3

- I. Age d'apparition des premiers symptômes respiratoires
II. Sévérité de ces symptômes

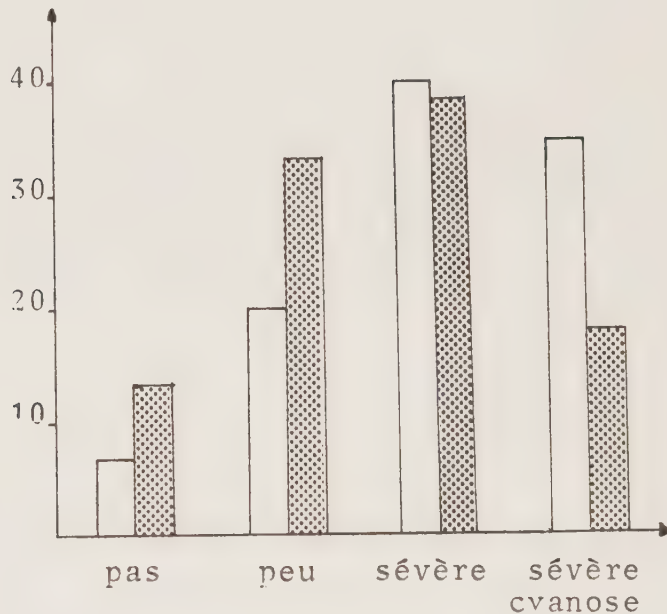
D'après M. MEARNS (1972) (92)

Pourcentage



I. Age des premiers
symptômes respiratoires

Pourcentage



II. Sévérité des symptômes
respiratoires au cours de
la première année

 Avant 1957
 Après 1957

L'enfant qui atteint cet âge avec des poumons sains dispose d'un avenir meilleur; il faut donc tenter de faire passer ce cap de 1 à 2 ans aux nourrissons avec des poumons dans le meilleur état possible.

L'efficacité d'un traitement précoce n'est plus à prouver (LAWSON) (83).

Rappelons l'étude de SHWACHMAN de 1970 dont nous avons déjà donné les résultats en fonction de l'état évolutif des enfants.

Citons aussi M. MEARNS (92) qui compare l'évolution pulmonaire de deux groupes de 100 enfants traités selon des méthodes plus actives depuis 1957:

	Groupe A enfants suivis avant 1957	Groupe B enfants suivis depuis 1957
<u>A la fin de la 1^o année:</u>		
- sans bronchite	50	80
- avec bronchite	40	16
- morts	10	4
<u>A 5 ans:</u>		
- sans S de bronchite	43	78
- avec bronchite	43	16
- morts	14	6

Nous devons cependant signaler que pour certains auteurs, la précocité du diagnostic et du traitement n'entraîne pas forcément une amélioration du taux de survie.

5. LES SCREENINGS PROPOSÉS

De nombreuses méthodes de screening sont proposées pour le dépistage de la mucoviscidose, et parmi elles:

- le test de la sueur,
- le dosage de l'ion sodium par activation neutronique dans les ongles,
- le dosage de l'ion sodium dans la salive,
- l'étude de la trypsine et de la chymotrypsine dans les selles,
- l'étude des propriétés électriques du jejunum de rat en présence de sérum.

Nous exposons les valeurs et les limites de ces méthodes dans le chapitre des commentaires généraux.

- enfin l'étude des protéines méconiales:
Cette étude retient particulièrement notre attention.

II Les protéines du méconium

1. EVOLUTION DES CONNAISSANCES

En 1950, GLANZMAN et BERGER (53) constatent la teneur élevée des protéines dans le méconium d'un enfant présentant un iléus méconial.

Ce fait est confirmé par d'autres auteurs:

- RAPOPORT et BUCHANAN en 1950 (103),
- YOUNG, SCHWERT, HARRIS en 1958 (146),
- GREEN, CLARKE, SHWACHMAN en 1958 (57) qui individualisent ces protéines comme étant essentiellement une albumine et peut-être des α , β et γ globulines (étude sur 8 méconiums d'iléus méconial).

- SCHACHTER et DIXON (119) confirment ces faits en 1964 et pensent que la survenue d'un iléus méconial est due à une mauvaise protéolyse intestinale.

En 1964, WISER et BEIER (145) étudient les méconiums de 5 enfants "à risque" ne présentant pas d'iléus méconial. Ils montrent que l'augmentation de la concentration d'albumine méconiale se retrouve aussi chez des nouveau-nés atteints de mucoviscidose et n'ayant pas de difficulté d'évacuation de leur méconium:

- dans 3 cas, l'électrophorèse sur papier puis l'immunoélectrophorèse prouvent la présence d'albumine; ces 3 enfants présentent ultérieurement les signes de la maladie;
- dans les 2 cas où il n'y a pas d'albumine méconiale, les enfants sont sains.

Les auteurs suggèrent déjà la possibilité d'un screening néonatal de la maladie par l'étude de l'albumine méconiale.

SCHUTT et ISLES (120) confirment ces travaux en 1968. Ils montrent que les protéines du méconium ont la même mobilité électrophorétique que les protéines du sérum et du liquide amniotique (ils admettent l'origine amniotique des protéines méconiales).

Ils introduisent pour le méconium l'usage des bandelettes ALBUSTIX * (Laboratoire AMES) destinées à la détection des protéines urinaires; le test est positif:

- dans 9 cas d'iléus méconial,
- chez 4 enfants sains de famille à risques,
- dans 2 cas d'obstruction intestinale où le diagnostic d'iléus méconial avait été porté à tort.

Toujours en 1968, GREEN et SHWACHMAN (58) essaient de prouver que l'étude de l'albumine méconiale peut être une méthode de screening.

Ils emploient 2 méthodes d'étude (test de précipitation de l'albumine par l'acide trichloracétique et test immunologique d'agglutination sur lame) sur 196 puis 1 200 méconiums.

Ils estiment que la fiabilité de la méthode est de 90 % et pensent que la quantité d'albumine est:

- maximale lorsqu'il s'agit d'un iléus,
- moyenne dans les cas de mucoviscidose sans iléus,
- basse chez les enfants sains.

CAIN, DEALL, NOBLE publient en 1972 (15) les premiers résultats de l'utilisation de la bandelette LABSTIX * (Laboratoire AMES) sur 6 200 nouveau-nés. Le test est 3 fois positif: 1 fois dans un cas de mucoviscidose, 2 fois pour un iléus.

Il ne semble pas y avoir eu de faux négatif.

Mais l'utilisation de ces bandelettes suppose au préalable la réalisation d'une suspension méconiale, et la coloration verte de la zone réactive en cas de positivité peut être confondue avec la coloration vert noir du méconium.

Ces raisons empêchèrent la généralisation de ce screening.

A la demande du Professeur STEPHAN, le Laboratoire BOEHRINGER MANNHEIM met alors au point une bandelette de détection de l'albumine méconiale. Ce BM test est utilisé dès 1972 par STEPHAN et BUSCH (129) dans une première enquête screening auprès de 9 Services hospitalo-universitaires allemands sur une population au hasard de 5 844 nouveau-nés.

Les tests sont réalisés par le Personnel infirmier des Maternités. Tout test positif est signalé et envoyé dans un Laboratoire (KOLLBERG, Uppsala) afin d'y être analysé quantitativement.

Tous les enfants ayant eu un test positif ont un test de la sueur et sont suivis pendant les premières semaines.

Notre travail apporte une contribution à cette étude.

Enfin, il est actuellement bien prouvé (RYLEY, 1974)(115) que le méconium de nouveau-né atteint de mucoviscidose, qu'il y ait ou non iléus méconial, est riche en protéines et que l'électrophorèse diffère considérablement de celle du méconium normal:

- méconium normal: 2 pics principaux α_1 antitrypsine et α_1 antichymotrypsine;

- méconium de mucoviscidose: ces 2 pics, un pic considérable d'albumine et un pic d'IgA.

2. LES MÉTHODES D'ÉTUDE DES PROTÉINES MÉCONIALES

Nous énumérons rapidement les méthodes et leurs principes.

2.1. Les méthodes qualitatives

2.1.1. Le test d'émulsion à l'éther (123)

Une suspension aqueuse de méconium est agitée en présence d'éther; on observe après repos:

- . la formation d'une couche gélatineuse adhérant fermement aux parois du tube, à la limite entre la phase aqueuse et la couche d'éther, lorsque le méconium utilisé est pathologique;
- . ce phénomène ne se produit pratiquement pas avec du méconium normal.

2.1.2. Les tests de précipitation de l'albumine

. par l'acide trichloracétique ou TCA ring test proposé par GREEN: une solution d'acide trichloracétique à 20 % est ajoutée à diverses dilutions aqueuses du méconium. La formation d'un précipité blanc à la jonction des deux phases liquides montre la présence de protéines.

. par l'acide sulfosalicylique ou SSA test. L'acide sulfosalicylique à 25 % est ajouté dans diverses dilutions méconiales; la présence d'un trouble dans la solution indique la positivité du test.

Ce test est utilisé par PROSSER-OWEN-BULL en 1974 (101) puis BULL-GLADWIN-GRIFFITHS (12).

- . par les métaux lourds tels que le chlorure mercurique.

- 2.1.3. Les bandelettes réactives imprégnées d'un colorant spécifique des protéines:
exemple bandelette ALBUSTIX^{*} du Laboratoire AMES

En milieu tamponné à pH 3, le bleu de tétrabromophénol est jaune; en présence de protéines et à ce même pH, il prend une coloration verte ou bleue selon la quantité de protéines présentes.

Cette bandelette a été modifiée par le Laboratoire BOEHRINGER MANNHEIM afin de l'adapter à la recherche de l'albumine dans le méconium (BM test).

- 2.1.4. L'électrophorèse de zones sur acétate de cellulose

Un tampon provoque l'ionisation des protéines qui, dans ce milieu conducteur, subissent un déplacement sous l'action d'un champ électrique (86) (68).

Les protéines sont ainsi séparées par leur différence de migration.

- 2.1.5. L'immunoélectrophorèse
(GRABAR et WILLIAMS, 1953) (69)

Elle combine une électrophorèse en milieu gélifié et la méthode dite de double diffusion d'OUCHTERLONY (précipitation antigène-anticorps provoquée par la mise en présence après diffusion d'une solution d'antigènes à étudier et d'un anti-sérum correspondant).

- 2.1.6. Le test immunologique d'agglutination sur lame

La mise en présence des protéines et de l'antisérum spécifique provoque leur floculation.

Dans le cas de l'analyse des protéines méconiales, il faut préparer un antisérum ne contenant pas d'anticorps vis à vis des antigènes que sont les substances de groupes sanguins A et B contenues dans le méconium.

2.2. Les méthodes quantitatives

2.2.1. La réaction colorée du Biuret donnée par les liaisons peptidiques en présence de sels de cuivre en milieu alcalin.

2.2.2. L'immunodiffusion radiale selon la méthode de MANCINI (mise au point en 1965)

Le principe en est le suivant: si on dépose un antigène dans un puits creusé dans une gélose contenant un antisérum homologue, l'augmentation de surface de l'anneau de précipitation (complexe antigène-anticorps) est d'abord fonction du temps, puis au bout d'un temps suffisant, la surface de cet anneau est directement proportionnelle à la concentration de l'antigène.

En pratique, on utilise des plaques de gélose contenant un anticorps spécifique de la protéine à doser. La plaque est étalonnée grâce à trois solutions standard que l'on place dans trois puits, les 9 autres puits servant à analyser les échantillons.

La diffusion dure 48 heures à température ambiante.

La lecture se fait grâce à une réglette spéciale donnant le diamètre D de l'anneau de précipitation et son carré.

Il suffit de reporter cette valeur sur un graphique $D^2/\text{dilution}$, fait à l'aide des 3 solutions standard.

On obtient directement la concentration en protéine de l'échantillon.

Cette méthode permet le dosage de l'albumine et de l' α_1 antitrypsine.

Le Laboratoire rend les résultats d'une immunodiffusion en 72 heures.

2.2.3. L'électroimmunodiffusion selon la
méthode de LAURELL

Cette méthode couple une électrophorèse et une immunodiffusion sur gel utilisant uniquement des anticorps antialbumine monospécifiques.

La quantité de protéines est mesurée par la hauteur des pics d'électroimmunodiffusion.

3. COMPOSITION PROTÉIQUE DU MÉCONIUM : DONNÉES ACTUELLES

3.1. Dans le cadre de ce screening, nous étudions particulièrement 3 valeurs:

- le taux d'albumine méconiale,
- le taux d' α_1 antitrypsine,
- le rapport de ces deux valeurs (R).

Les données actuelles rapportées par R. GILLY (51) sont:

Méconium	Normal	Mucoviscidose
Poids sec	23,9 %	42,6 %
N total (poids sec)	6,6 %	10,8 %
Protéines insolubles dans acide trichloracétique	7 %	85 %
Albumine (mg/g poids sec)	1,1 $\pm$ 0,6	11 à 270
Alpha ₁ antitrypsine (mg/g poids sec)	53 $\pm$ 26	5 à 39
Rapport $\frac{\text{Albumine}}{\alpha_1 \text{ antitrypsine}}$	0,11 $\pm$ 0,1	5,7 à 6,9
Electrophorèse et immuno-electrophorèse des protéines	2 arcs seulement (α_1 antitrypsine et α_1 antichymotrypsine)	Migration identique à celles: - du sérum, - du liquide amniotique.

3.2. Choix d'une limite inférieure pour le taux d'albumine dans l'orientation du diagnostic

Cette limite est fixée à 20 mg par gramme de méconium sec.

HELLSING et KOLLBERG (62) justifient ce choix en étudiant une population de 1 000 nouveau-nés sains et de 15 nouveau-nés atteints de mucoviscidose (Tableau n° 4):

- parmi les enfants sains:

- . 59 % ont moins de 0,3 mg/g d'albumine,
- . 92 % ont moins de 1 mg/g d'albumine,
- . 99,6 % ont moins de 4 mg/g,
- . 3 enfants ont entre 5 et 7 mg,
- . 1 prématuré (triplé) a 102 mg;

- parmi les enfants malades:

Les taux d'albumine s'échelonnent de 35 à 500 mg;
50 % des enfants ont plus de 200 mg/g.

Ces mêmes auteurs estiment en 1975 (78):

- la possibilité pour un méconium normal d'avoir moins de 20 mg/g d'albumine est de: 99,5 % à 99,9 %;

- la probabilité pour un méconium de mucoviscidose d'avoir plus de 20 mg/g d'albumine est de 75 à 90 %.

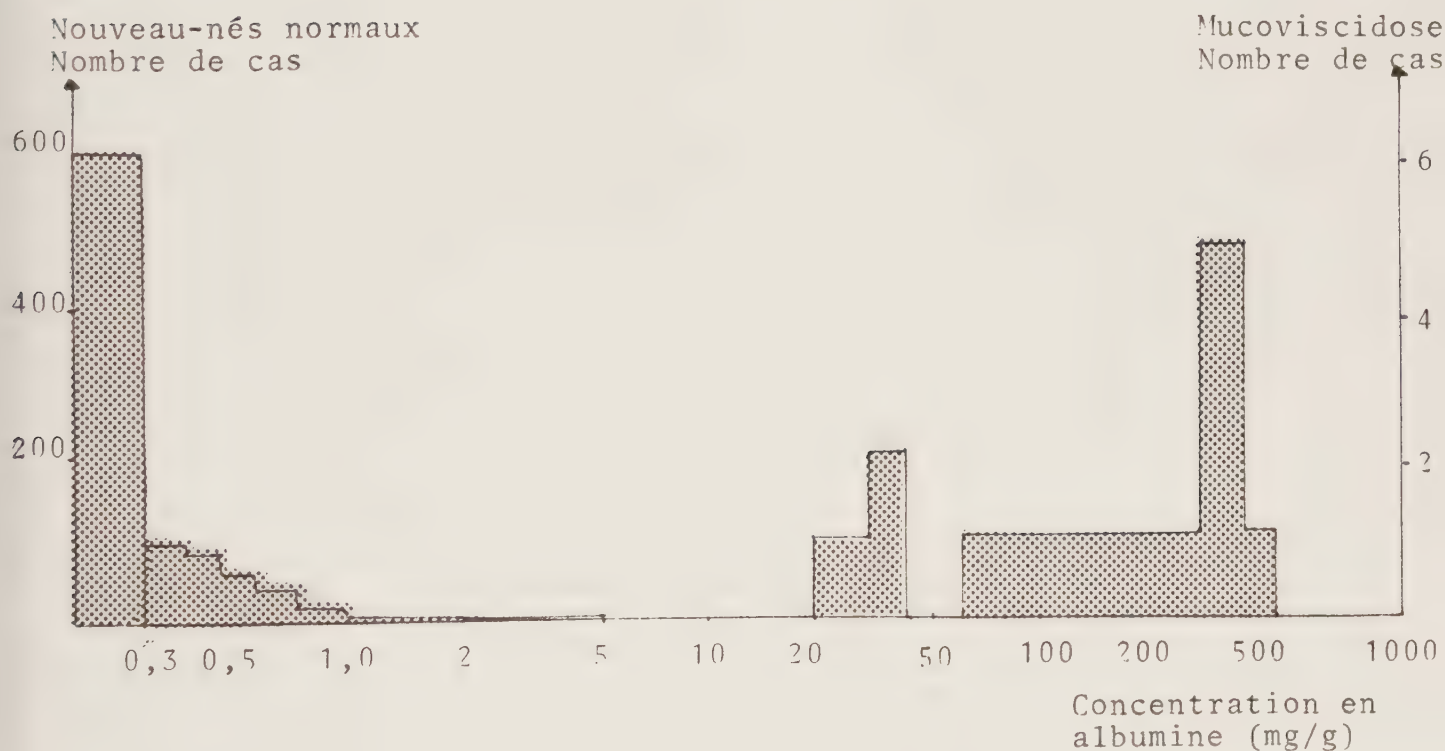
3.3. Le rapport $R = \frac{\text{Albumine}}{\alpha_1 \text{ antitrypsine}}$

Sa valeur limite est fixée à 2 (RYLEY) (116).

Tableau n° 4

Concentration d'albumine dans le méconium de
1 000 nouveau-nés normaux et de 15 nouveau-nés
atteints de mucoviscidose

D'après HELLSING et KOLLBERG (1974) (62)



III Notre enquête

1. LE BM TEST CONSTITUE UNE MÉTHODE DE SCREENING

"Screening" signifie littéralement "passer au crible", et évoque très bien l'orientation de cette étude: il s'agit d'un dépistage de masse, systématique et indépendant de toute indication clinique ou génétique.

Le BM test peut être considéré comme une méthode de screening car:

- il peut s'appliquer à tous les sujets de la population choisie; il est facilement réalisable sur tous les enfants nés en Maternité. Nous ne tenons pas compte des naissances à domicile qui, si elles ne sont pas accidentelles, deviennent exceptionnelles;

- le test est simple à réaliser, rapide et n'impose aucun prélèvement traumatisant ou complexe au nouveau-né;

- il n'est pas onéreux: chaque test coûte 1,70 F, ne nécessite aucun appareillage coûteux et mobilise peu le personnel.

Le dépistage de la mucoviscidose s'inscrit dans le cadre plus large du dépistage des maladies métaboliques héréditaires.

Des Généticiens, Obstétriciens et Pédiatres ont créé dans notre région la FOROPS: "Fédération des Organismes Régionaux d'Obstétrique et de Pédiatrie Sociale". Cette Fédération assure actuellement le dépistage de la phénylcétonurie et regroupe les tentatives de dépistage d'autres maladies: mucoviscidose, toxoplasmose, hypothyroïdie, dystrophie musculaire.*

* Nous remercions la FOROPS de son aide.

Le BM test doit de plus:

- être sensible et fiable: il doit dépister le plus grand nombre possible de cas, idéalement tous les cas;
- être spécifique de la mucoviscidose.

Le but de cette enquête est d'étudier le BM test en tant que méthode de screening de la mucoviscidose et d'installer le dépistage de la maladie le plus largement possible.

2. LA RÉALISATION DU BM TEST EST SIMPLE

2.1. Son principe

Le BM test montre une augmentation de la quantité d'albumine dans le méconium grâce au virage d'un indicateur coloré.

Le papier réactif situé sur la bandelette-test contient: l'ester éthylique de tétrabromophénolphtaléïne, dont la coloration jaune clair vire au bleu foncé en présence d'albumine.

Il s'agit d'un phénomène de chromatographie ascendante: la partie inférieure de la bandelette étant mise en contact avec de l'eau, cette eau migre par capillarité entraînant ainsi l'albumine méconiale. La mise en contact de l'albumine avec l'indicateur provoque le changement de coloration.

La réaction est spécifique de l'albumine: du fait de la méthode de chromatographie, les autres protéines n'interviennent pas dans la réaction de coloration (STEPHAN) (136).

Ces bandelettes sont dosées de façon à virer en présence d'une concentration d'albumine d'au moins 20 mg par gramme de méconium sec.

2.2. Le matériel

Il est livré sous forme d'une boîte en matière plastique rectangulaire contenant 50 tests. Chaque test comprend:

- une bandelette plastifiée (7,5 cm; 0,6 cm) dont l'une des faces est recouverte sur sa partie inférieure (3 cm) par un papier réactif contenant l'ester éthylique de tétrabromophénolphtaléïne,
- un petit récipient cylindrique de plastique transparent à usage unique (3 cm; 1,5 cm),
- un flacon compte-gouttes d'eau distillée (à remplir).

2.3. La réalisation du test

Elle est simple et dure à peine une minute.

- L'opérateur dépose 3 à 5 gouttes d'eau distillée dans le récipient cylindrique de façon à en recouvrir uniformément le fond (secouer légèrement le récipient si nécessaire)
-photo 1-

- Puis il étale le méconium sur toute la largeur de la zone réactive de la bandelette à l'aide d'une spatule (non fournie) ou en prélevant directement le méconium de la couche avec la bandelette.

Le dépôt de méconium ne doit pas excéder 5 à 10 mm de hauteur et doit se faire uniformément sur la bandelette
-photo 2-

Il est nécessaire auparavant de mélanger tout le méconium émis au niveau de la couche à l'aide d'un agitateur afin d'en assurer une bonne homogénéité.

- La bandelette est immédiatement introduite dans le récipient contenant l'eau; il faut veiller à ce qu'une partie du méconium se trouve au-dessus de la surface de l'eau
-photo 3-

La manipulation est terminée. L'opérateur attend 10 à 15 minutes avant de lire le résultat.

La réalisation du BM Test Méconial



Photo 1



Photo 2



Photo 3

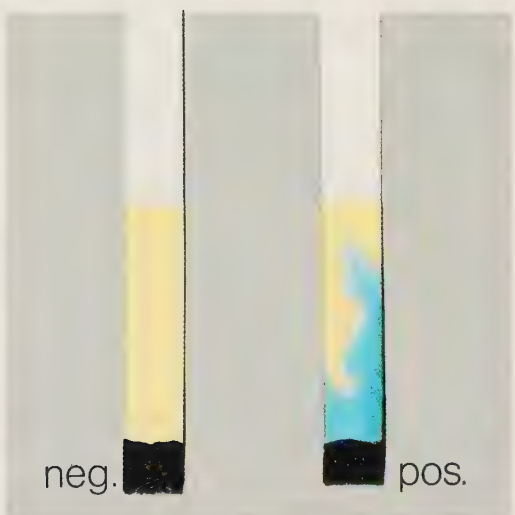


Photo 4

2.4. La lecture du résultat

En cas de test positif, il apparaît sur toute la hauteur de la partie réactive une coloration bleue foncée parfaitement reconnaissable. Cette coloration est homogène et ne se limite pas aux bords de la bandelette.

En cas de test négatif, la bandelette reste jaune, mais prend souvent une teinte bleu ciel.

Cette lecture se fait au bout de 10 à 15 minutes, mais peut se poursuivre au-delà de ce temps car la coloration reste stable.

Cette stabilité de la coloration permet "d'archiver" les bandelettes; nous conservons quelques échantillons de bandelettes positives ayant gardé leur coloration depuis plus d'un an.

2.5. Les conditions techniques d'une bonne réalisation

2.5.1. Le test doit être effectué sur le premier méconium émis, éventuellement le second. L'étude de l'évolution du taux d'albumine méconiale en fonction de l'ordre d'émission montre en effet une diminution notable de ce taux.

HELLSING et KOLLBERG (62) ont réuni en 1974 les analyses de tous les méconiums émis par 10 enfants sains et un enfant atteint de mucoviscidose (Tableau n° 5):

- la concentration en albumine du méconium d'un enfant atteint de mucoviscidose est plus de 100 fois supérieure à celles des enfants normaux au cours du premier jour;

- cette concentration diminue ensuite rapidement dans tous les méconiums: jusqu'à un taux inférieur à 0,1 mg/g en 1 à 3 jours chez les enfants sains, alors que chez les enfants malades, il persiste toujours des quantités détectables d'albumine pendant la première semaine de vie.

Tableau n° 5

Temps après la naissance	Enfants normaux										Enfants avec CF
<u>Heures:</u>											
0 - 8	2,18	1,41	0,25								
0 - 8	0,89		0,25	0,25	0,33	0,10	0,89	3,52			
8 - 16		0,36			0,10	0,17	0,31	0,93	0,27		
16 - 24	0,23	<0,1	<0,1	0,45		0,26	0,38	<0,1	1,34	1,02	343
24 - 32				0,27	0,1	<0,1	0,28		2,64	0,63	275
32 - 40	0,17					<0,1	<0,1		1,61	<0,1	
40 - 48				0,49					<0,1		
<u>Jours:</u>											
III	<0,1			<0,1							11,8
IV											1,99
V											1,36
VI											2,28
VII											10,9

Concentration d'albumine dans tous les méconiums
collectés pendant les premiers jours (en mg/g)
D'après HELLSING et KOLLBERG (1974) (62)

Nous avons personnellement observé cette diminution de l'albumine méconiale par l'étude des diverses émissions méconiales de nouveau-nés hospitalisés dans un Service de Néonatalogie (Service du Professeur GILLY, Hôpital Sainte-Eugénie). Il s'agit de nouveau-nés à terme et de prématurés.

Avant l'analyse quantitative, les méconiums sont conservés à +4° .

L'étude chez les nouveau-nés à terme donne les résultats suivants:

N° d'émission.	Taux d'albumine méconiale (mg/g)					
	.	.	.	.	.	.
1°	3,14	6,8	1,6	2,06	3,3	1,39
2°	3,65	0,58	0,76	0,15	1,41	0,86
3°	0,81	0,30	0,01		<0,01	<0,01
4°	<0,01					

Nous ne disposons malheureusement pas des dates exactes d'émission des échantillons.

Quatre cas sont particulièrement remarquables. Il s'agit de prématurés qui n'ont pas présenté de signe de mucoviscidose, et pour lesquels le test de la sueur est négatif. Une étude plus complète de ces cas est faite au chapitre V. (Tableau n° 6).

Tableau n° 6

Temps	Cas n° 1	Cas n° 2	Cas n° 3	Cas n° 4
Jour de naissance	600 580	169 170 114	169	37
2è jour	410 350 292		182	1,01
3è jour	278 320 176	10		2,39
4è jour	271 146		26,5	
5è jour	118			

Evolution du taux d'albumine chez des prématurés
Etude personnelle

Ainsi, le test effectué sur une troisième ou quatrième émission méconiale perd sa valeur.

2.5.2. Il est indispensable de mélanger soigneusement le méconium que l'on va tester afin de lui assurer une bonne homogénéité dans la répartition de l'albumine.

HELLSING et KOLLBERG (62) étudient en 1974 la concentration en albumine de méconiums qu'ils scindent en 7 à 10 fractions; certains méconiums sont mixés, d'autres non (Tableau n° 7).

Le coefficient de variation de la concentration d'albumine est, de façon très évidente, diminué pour les méconiums qui ont été homogénéisés.

2.5.3. Il est souhaitable de réaliser le test avant toute alimentation (apport de protéines), mais ceci est en général réalisé lorsque le premier méconium est recueilli.

2.5.4. De même l'application de pommade ou de lait de toilette sur le siège peut modifier le résultat du test.

2.5.5. L'étalement du méconium doit se faire sur toute la largeur de la bandelette de façon régulière et homogène.

2.5.6. Le niveau de l'eau au fond du récipient ne doit pas dépasser le niveau supérieur de l'étalement de méconium.

2.5.7. Le degré d'hydratation du méconium n'affecte pas le test puisqu'il s'agit d'une chromatographie ascendante.

Tableau n° 7

Homogénéité de l'albumine dans les échantillons de méconium
D'après HELLSING et KOLLBERG (1974) (62)

Méconium non mélangé			Méconium mélangé		
Concentration en alb. (mg/g) moyenne $\pm$ 1 DS.	Parts	Coeff. de variation (%)	Concentration en alb. (mg/g) moyenne $\pm$ 1 DS.	Parts	Coeff. de variation (%)
0,17 $\pm$ 0,09	7	56	0,69 $\pm$ 0,10	8	15
0,18 $\pm$ 0,02	8	14	1,15 $\pm$ 0,12	8	11
0,24 $\pm$ 0,02	7	9	2,80 $\pm$ 0,16	6	5,6
0,45 $\pm$ 0,01	9	26	3,73 $\pm$ 0,78	8	21
0,73 $\pm$ 0,44	11	60	3,95 $\pm$ 0,13	8	3,4
0,75 $\pm$ 0,08	9	10	4,99 $\pm$ 0,37	8	7,4
1,01 $\pm$ 0,30	9	30	6,16 $\pm$ 0,19	8	3,1
1,22 $\pm$ 0,50	8	41	6,50 $\pm$ 0,16	8	2,5
2,23 $\pm$ 1,11	8	52			
231 $\pm$ 90	8	39			
Moyenne: 33,7			Moyenne: 8,75		

10 méconiums réfrigérés contenant des quantités mesurables d'albumine ont été divisés sans aucun mélange préalable, 8 autres après mélange.

Les fractions obtenues sont analysées.

3. ORGANISATION DE L'ENQUÊTE

3.1. Présentation de l'enquête

Cette enquête concerne une partie de la population d'enfants nés de Novembre 1973 à fin Décembre 1975 à LYON et dans la région lyonnaise (soit une période de 26 mois).

Participent à l'enquête:

1°) Toutes les Maternités des Hospices Civils de LYON, celle de l'Hôpital Saint-Joseph et 3 Maternités privées de la ville;

2°) A notre demande, un certain nombre d'hôpitaux de la périphérie de LYON ont accepté de mettre en train l'enquête dans le cadre de leur Maternité, et nous utilisons leurs résultats.

Précisons deux points importants.

Nous n'avons pu tester la totalité des enfants nés dans le secteur géographique déterminé, l'enquête n'ayant pas été instituée dans toutes les Maternités privées. Cette enquête n'a donc aucune valeur épidémiologique.

Par ailleurs, environ 30 % de la population d'enfants testés sont constitués d'enfants étrangers et particulièrement nord-africains, pour lesquels nous ne connaissons pas la fréquence de la maladie.

Il s'agit là d'un facteur d'erreur qu'il faudra ultérieurement supprimer en différenciant les deux populations.

3.2. Méthodologie dans les Maternités

3.2.1. Mise en place du screening

Avec l'accord du Chef de Service et en présence du Pédiatre, nous réunissons dans chaque Maternité le personnel chargé de réaliser le test, c'est à dire les Sage-Femmes et les Puéricultrices.

Nous présentons le test et effectuons une démonstration avec un méconium normal puis avec un méconium de synthèse fourni par le Laboratoire BOEHRINGER-MANNHEIM, afin d'observer une réaction positive.

La formule chimique de ce méconium de synthèse nous a été communiquée par le Laboratoire BOEHRINGER-MANNHEIM:

1 000 g	Propiofan	(BASF)
50 g	Pigment noir	
30 g	Pigment brun	(SIEGLE)
10 g	Albumine bovine	dans 100 ml d'eau
1 g	Thiozid	

La présentation du test est suivie de la distribution d'un protocole écrit expliquant le but de l'enquête, sa réalisation pratique et les consignes particulières à suivre en cas de test positif ou douteux.

Enfin, nous fournissons à chaque Service un cahier spécial, réalisé et distribué par nos soins, sur lequel nous demandons que soient inscrits tous les accouchements réalisés dans la Maternité. Chaque accouchement noté doit être accompagné de certains renseignements concernant l'enfant (voir page suivante).

Par la suite, nous avons été amenés à simplifier le cahier et à ne laisser subsister que les rubriques:

- date et heure de naissance,
- date et heure du test,
- sur quelle émission méconiale a-t-il été réalisé ?
- résultat du BM test.

Malheureusement, nous n'avons pu tirer parti de ces renseignements qui nous ont été donnés de façon très incomplète.

Chaque cahier consigne environ 100 naissances.

Nous avons beaucoup insisté sur la tenue de ce cahier pour plusieurs raisons.

Il représente un support matériel rappelant la nécessité de pratiquer le test à tout nouveau-né; il permet de contrôler si chaque enfant a bien été testé, évitant ainsi les oublis involontaires.

Enfin, il nous donne a posteriori la possibilité de contrôler si chaque enfant particulier a bien été testé et dans quelles conditions.

3.2.2. La surveillance régulière de l'enquête

Elle a été hebdomadaire pour chaque Maternité pendant les 6 premiers mois.

Elle nous permet de contrôler la bonne marche de l'enquête, de la stimuler, de refaire des démonstrations chaque fois que cela semble nécessaire et de répondre aux questions pratiques qui nous sont posées.

Elle nous permet aussi de contacter la plus grande partie du personnel, du fait que nous avons toujours eu affaire à des équipes changeant d'horaires.

Ce contrôle hebdomadaire, indispensable au début, a ensuite été remplacé par des visites bimensuelles.

Lors de nos visites, nous fournissons les Maternités en boîtes de tests et cahiers, ramassons les 5 ou 6 méconiums prélevés systématiquement à notre demande la veille de notre visite et conservés à $+4^{\circ}$; ces méconiums sont pris au hasard à titre de témoins sur lesquels nous refaisons un BM test au Laboratoire.

3.2.3. Protocole spécial en cas de test positif ou douteux

Ces cas sont prévus dans le protocole distribué à chaque Maternité.

Nous demandons que nous soient signalés tous les tests positifs ou douteux, même si la coloration bleue obtenue est légère, ceci afin d'éliminer tout critère subjectif d'appréciation.

De ce fait, le nombre de tests lus positifs ou douteux a été particulièrement élevé au cours des premiers mois de l'enquête.

En pratique, lorsqu'un test est lu positif ou douteux à la Maternité, la Puéricultrice prélève un échantillon de ce même méconium dans un flacon stérile et le place à $+4^{\circ}$ dans le réfrigérateur. Toute bandelette qui vire au bleu doit être conservée avec le méconium.

La Maternité nous prévient ensuite de ce résultat par téléphone, et l'échantillon de méconium accompagné de la bandelette-test nous est adressé le plus rapidement possible dans un emballage isotherme.

Sur la lettre jointe à l'envoi, nous demandons quelques renseignements concernant l'enfant:

- nom, prénom, date de naissance;
- y a-t-il eu une pathologie néonatale particulière ?
- s'agit-il d'un prématuré ?

Le problème de la suspicion de la mucoviscidose n'est pas abordé avec la Mère d'un enfant testé, sur le seul résultat du BM test. Nous attendons d'avoir reçu une réponse positive du Laboratoire avant d'intervenir auprès des Parents.

3.2.4. Cas particulier de certaines Maternités

Dans deux Maternités, la réalisation du test a été difficile, et pour des raisons mal déterminées n'a pas donné les résultats souhaités.

Nous avons donc demandé au personnel de ne plus réaliser le BM test et de faire simplement un prélèvement le plus systématique possible des méconiums dans les conditions techniques prévues (flacon stérile conservé à +4°).

Les méconiums ainsi stockés sont adressés une fois par semaine au Laboratoire où le BM test est pratiqué.

Ceci nous a permis d'établir une étude témoin parallèle à celle des Maternités.

4. DIFFICULTÉS RENCONTRÉES AU COURS DE L'ENQUÊTE

Nous exposons les difficultés auxquelles nous nous sommes heurtés, difficultés qui se situent à plusieurs niveaux de l'enquête, c'est à dire:

- l'implantation de l'enquête dans les Maternités,
- la conservation du test à la Maternité,
- la récupération du méconium pour le test,
- la réalisation du test,
- l'interprétation du résultat,
- le recueil d'un méconium suspect pour le contrôle.

4.1. L'implantation de l'enquête dans les Maternités

Elle se trouve particulièrement gênée par les horaires du personnel des Maternités, étant donné qu'il s'agit d'équipes faisant les 3 x 8. Il faudrait pouvoir faire une démonstration du BM test avec un méconium normal et avec le méconium de synthèse devant chaque équipe. Compte tenu du nombre des Maternités à visiter, il nous a fallu plus de 2 mois de visites hebdomadaires avant d'avoir réalisé toutes les démonstrations nécessaires.

Par ailleurs, dans les périodes de congé et fêtes, le personnel est réduit et il peut arriver que le test soit effectué par des opérateurs non informés à l'avance; il faudrait pouvoir éviter ce genre de situation.

Il nous semble que si le Pédiatre ou l'Obstétricien de la Maternité prenait en charge la surveillance de l'enquête, il y aurait une meilleure efficacité en ce qui concerne la réalisation du test et son application systématique.

4.2. La conservation des tests à la Maternité

Au cours de la réalisation de tests au Laboratoire sur un lot déterminé de BM test, nous avons trouvé un nombre de résultats douteux plus élevé que normalement; nous avons émis l'hypothèse d'une détérioration du réactif.

Le Professeur BUSCH nous a répondu au nom du Laboratoire BOEHRINGER-MANNHEIM et a précisé les points suivants:

1. le BM test est stable pendant au moins 2 ans lorsqu'il est conservé à température ambiante; son maintien dans un réfrigérateur n'est pas nécessaire. Certaines bandelettes ont été gardées à $+35^{\circ}$ pendant 4 semaines et n'ont pas été altérées.

2. le lot suspect était normal; son contrôle a pu être effectué grâce aux échantillons témoins conservés par le Laboratoire. L'hydrophilie des tests est rigoureusement vérifiée afin d'assurer une chromatographie normale.

3. les tubes métalliques contenant les bandelettes doivent toujours être bien fermés afin d'empêcher l'humidité d'y pénétrer; un produit hydrophile est d'ailleurs placé à cet effet dans le bouchon du tube.

4.3. La récupération du méconium pour le test

Dans la plupart des Maternités, l'accouchement a lieu en salle de travail, le nouveau-né est ensuite rapidement emmené avec sa mère dans le Service de Maternité proprement dit.

Le méconium est alors récupéré par la sage-femme ou l'infirmière puéricultrice au cours des changes.

Il est cependant de nombreux cas où cette chronologie n'est pas respectée:

- lorsque le nouveau-né est hospitalisé rapidement après la naissance dans une unité spécialisée de néonatalogie,
- lorsque le nouveau-né émet son premier méconium à la naissance.

D'après les renseignements inscrits sur nos cahiers, 7,1 % des nouveau-nés vivants sont hospitalisés (nous excluons les morts in utero et morts pendant le travail qui ont été classés par les puéricultrices comme mort-nés).

Ce chiffre est assez proche des 8,2 % trouvés par N. MAMELLE et B. LAUMON dans leur étude de 7 905 dossiers obstétricaux informatisés recueillis en 1972 dans 5 Maternités des Hospices Civils de LYON (90).

La différence trouvée résulte certainement de l'absence de véritable rigueur de notre étude: les chiffres que nous citons sont lus sur les cahiers de BM test qui n'ont pas toujours été parfaitement remplis.

Ces nouveau-nés hospitalisés sont inscrits sur nos cahiers mais n'ont en général pas été testés. Nous spécifions "en général" car si l'hospitalisation survient après 3 à 4 jours de vie, l'enfant a déjà été testé. Il nous a malheureusement été impossible de distinguer ces cas.

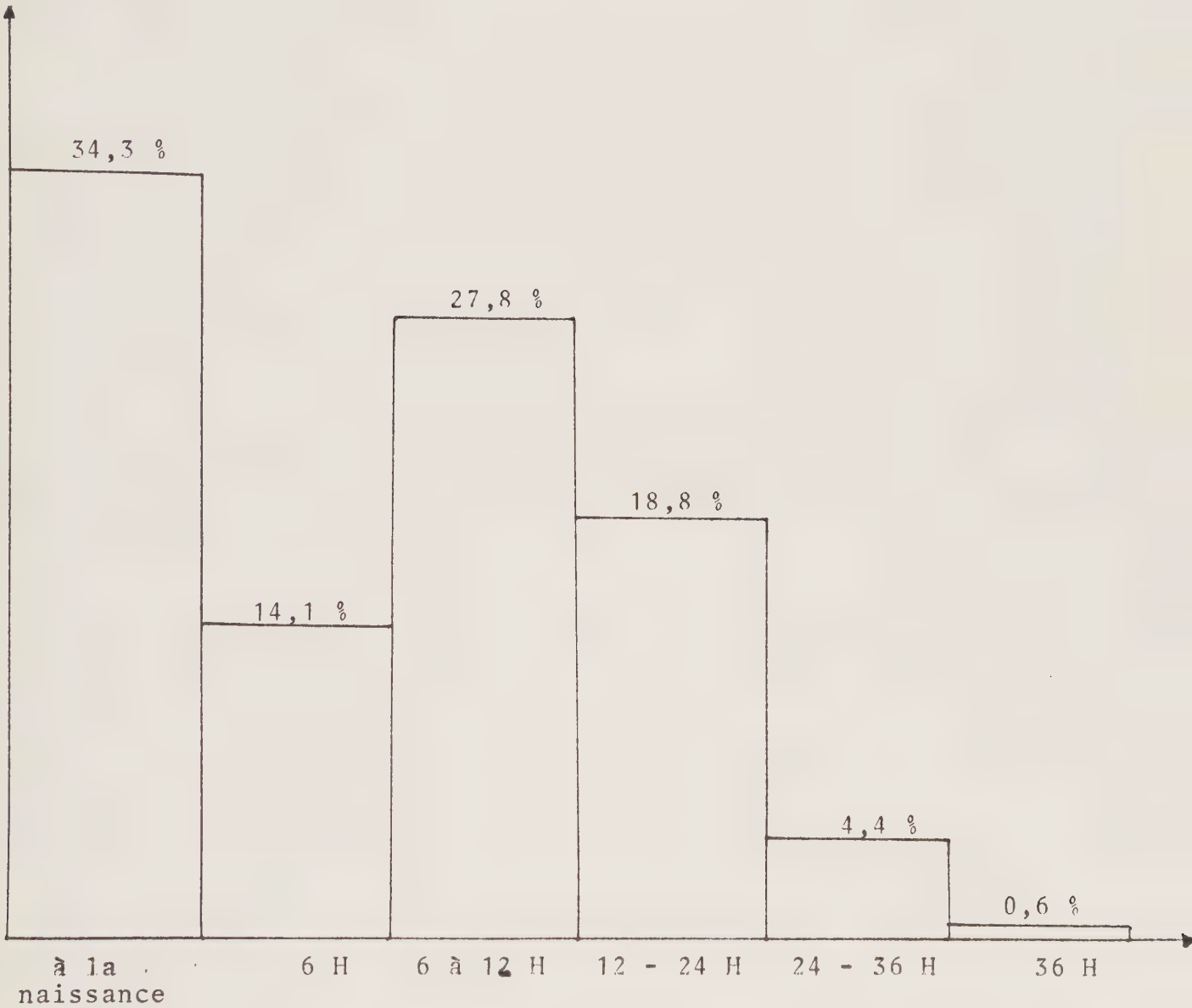
Ceci pose le problème de la collaboration technique avec les unités pédiatriques néonatales médicales et chirurgicales. Il serait souhaitable que le screening y soit établi en même temps que les multiples examens effectués sur tout nouveau-né hospitalisé. Il est probable cependant que, au cours de leur séjour hospitalier, les enfants porteurs de mucoviscidose n'échappent pas au diagnostic.

La date de la première émission méconiale est très variable selon les nouveau-nés. Dans l'étude précédemment citée, N. MAMELLE et B. LAUMON classent les enfants selon l'heure d'émission du premier méconium (Tableau n° 8). Dans 34,3 % des cas, la première émission se fait à la naissance.

Tableau n° 8

Début de l'émission du méconium
D'après N. MAMELLE et B. LAUMON (90)

Pourcentage



Effectif: 6 049

Nous avons personnellement relevé 21 % d'émission méconiale à la naissance; ce chiffre est obtenu dans une Maternité sur 1 116 naissances vivantes.

Dans ces cas, le méconium est recueilli directement par la Sage-Femme en salle d'accouchement. Il faut donc prévoir deux points de dépistage dans la Maternité, l'un en salle d'accouchement, l'autre à la nursery, avec une liaison entre les deux afin que le même test ne soit pas refait deux fois.

Nous avons proposé un tampon apposé sur la feuille de lit de l'enfant, tampon sur lequel est inscrit le résultat du test; ce système semble avoir donné satisfaction dans les Maternités où il a été utilisé.

4.4. La réalisation du BM test

Il s'agit essentiellement de problèmes techniques que la pratique du test permet de résoudre: méconium trop épais, ou étalé sur toute la surface du papier réactif, quantité excessive d'eau...

Un autre problème pratique nous a souvent été posé: celui du délai de lecture. Le Laboratoire BOEHRINGER-MANNHEIM conseille 10 à 15 minutes.

Certaines Sage-Femmes nous ont rapporté que la couleur fonce avec le temps et que ayant dépassé le délai de 10-15 minutes, le résultat du test en est faussé.

Les essais que nous avons pratiqués au Laboratoire nous permettent de dire qu'il y a peut-être une très légère accentuation de la coloration, mais ne prêtant pas à une fausse interprétation. Par la suite, la coloration reste tout à fait stable.

4.5. L'interprétation du résultat

Ce problème est capital pour nous, car cette interprétation engage la valeur du test. Il est certain qu'il s'agit d'une évaluation subjective de la couleur avec son cortège d'interprétations nuancées, mais on doit exiger une coloration bleu foncé pour parler de test positif.

Cette interprétation dépend beaucoup de l'information précise du personnel et de son expérience. Ainsi nous avons remarqué que dans les premiers temps du dépistage dans une Maternité, le nombre de tests positifs ou douteux est élevé et diminue ensuite.

Dans une des Maternités lyonnaises, nous avons obtenu 15 tests positifs ou douteux la première année, dont 9 pendant les 6 premiers mois; ces tests se sont tous révélés de faux positifs. L'année suivante, aucun test positif ou douteux n'a été décelé.

4.6. Le recueil du méconium suspect pour un contrôle

En cas de test positif ou douteux, nous devons effectuer un contrôle du méconium, et pour cela nous demandons le prélèvement de l'échantillon suspect.

Cependant, la plupart du temps, lorsque le test est lu, le méconium a déjà été jeté avec la couche et l'opérateur ne prélève que l'émission suivante du méconium pour l'envoyer au Laboratoire.

Ceci constitue un facteur d'erreur difficile à supprimer. Mais nous pouvons penser que, compte tenu de la diminution du taux d'albumine en fonction du numéro d'ordre d'émission du méconium, lorsque ce taux est pratiquement nul dans une seconde émission, il est possible qu'il ait été peu élevé dans la première, ou tout au moins pas de manière significative.

Parmi les cas de test positif sur une première émission, nous avons presque toujours retrouvé une quantité anormale d'albumine dans le deuxième, et parfois le troisième méconium émis.

Par ailleurs, après avoir été conservé à $+4^{\circ}$, le méconium prélevé doit nous être envoyé. C'est à ce niveau que peut se poser un problème de conservation: HELLSING et KOLLBERG (62) montrent en 1974 l'instabilité de l'albumine méconiale en fonction de la température (Tableau n° 9).

Ils étudient 18 méconiums de nouveau-nés normaux auxquels ils ajoutent une quantité connue d'albumine. Ces méconiums sont répartis en un certain nombre de fractions soumises à deux modes de conservation: $+4^{\circ}$ et température ambiante. L'analyse de ces fractions de méconium met en évidence la très rapide dégradation de l'albumine dans les cas de conservation à température ambiante: on ne retrouve que 70 % de la quantité d'albumine à la 20ème heure, à peine 25 % à la 48ème heure. Les fractions conservées à $+4^{\circ}$ maintiennent leur taux d'albumine de façon assez stable: à la 96ème heure, le taux ne baisse seulement que de 10 à 15 % du taux initial.

Une telle étude a été effectuée au Laboratoire de l'Hôpital Sainte-Eugénie sur les échantillons de méconium qui nous sont envoyés par les Maternités.

Il n'a pas été ajouté d'albumine aux échantillons de méconium qui sont conservés sans modification chimique. Chaque méconium est divisé en 3 parties:

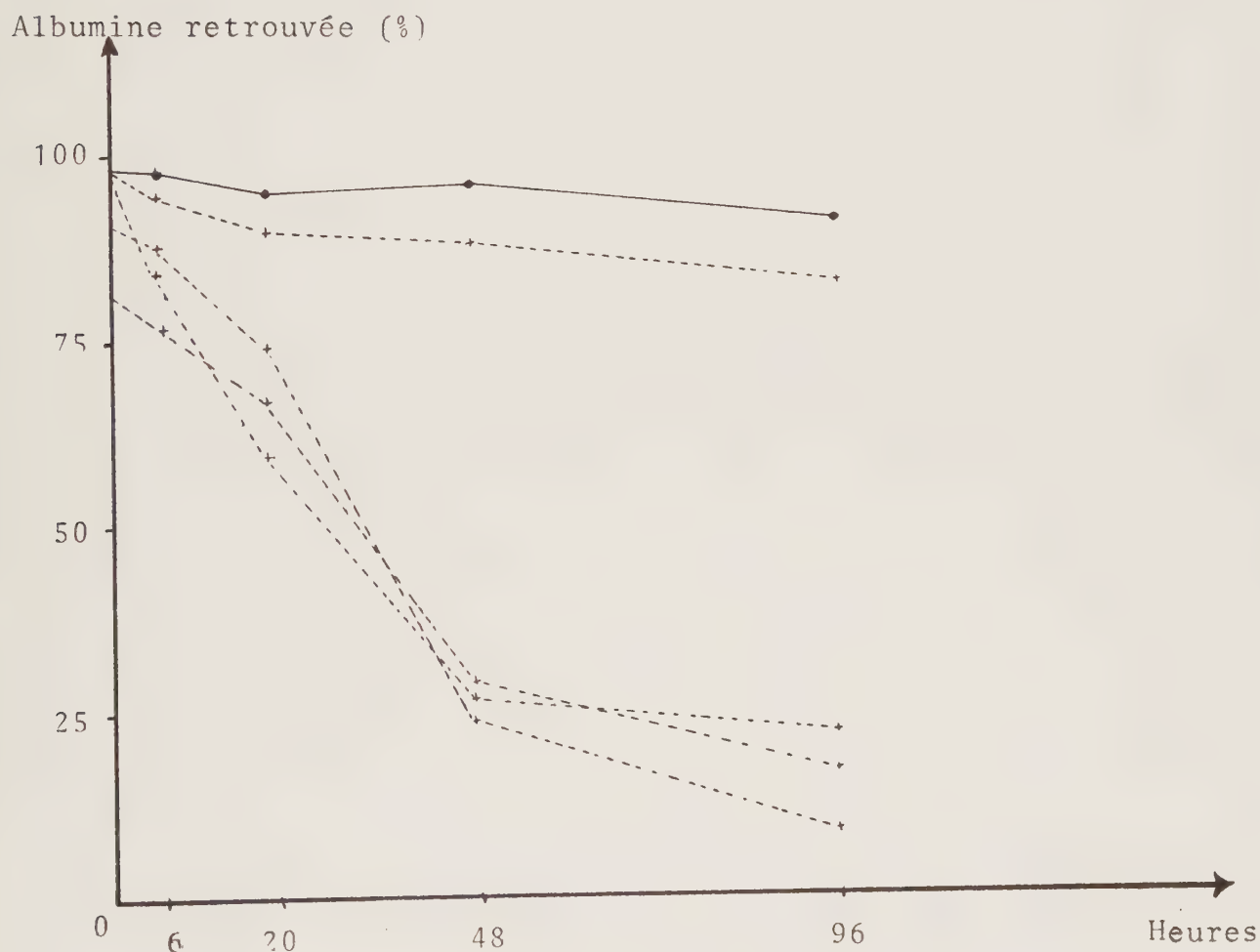
- une conservée à température ordinaire,
- une conservée à $+4^{\circ}$ au réfrigérateur,
- une conservée au congélateur.

L'étude de l'albumine se fait par immunodiffusion aux premier, troisième, cinquième, septième et quinzième jours.

Tableau n° 9

Influence de la température de conservation
sur les échantillons de méconium

D'après HELLSING et KOLLBERG (1974) (62)



—•— Concentration en albumine de 4 méconiums conservés à +4°
(chaque point représente la moyenne de 8 déterminations)

+-----+ Concentration en albumine de 4 méconiums à température
ambiante
(chaque point représente la moyenne de 2 déterminations)

Toutes les valeurs sont données en pourcentage de la valeur initiale.

Le tableau suivant regroupe les résultats obtenus sur six méconiums en dilution, à partir du taux initial observé; il s'agit de méconiums de prématurés.

Jour	Alb=544mg/g Temp.ord.	+4°	Alb=160 mg/g Temp.ord.	+4°	Alb=86 mg/g Temp.ord.	+4°
J 3	490	538	144	158	77	85
J 5	379	528	110	155	60	84
J 7	220	514	70	152	36	82
J15	101	511	32	150	16	80
Jour	Alb=57 mg/g Temp.ord.	+4°	Alb=31 mg/g Temp.ord.	+4°	Alb=16 mg/g Temp.ord.	+4°
J 3	51	56,5	27	30,7	14	15,8
J 5	40	55,3	22	30	11	15,5
J 7	23	54	11	29,5	6	15
J15	23	53	6	29	3	14,5

Les résultats de conservation à +4° et dans le congélateur sont identiques, nous les regroupons dans une seule colonne.

Nous avons fait une représentation graphique de la diminution du taux d'albumine, il apparaît une nette différence entre les deux modes de conservation (Tableaux n° 10 et 11).

Tableau n° 10

Influence de la température de conservation
sur 4 échantillons de méconium en dilution
Enquête personnelle

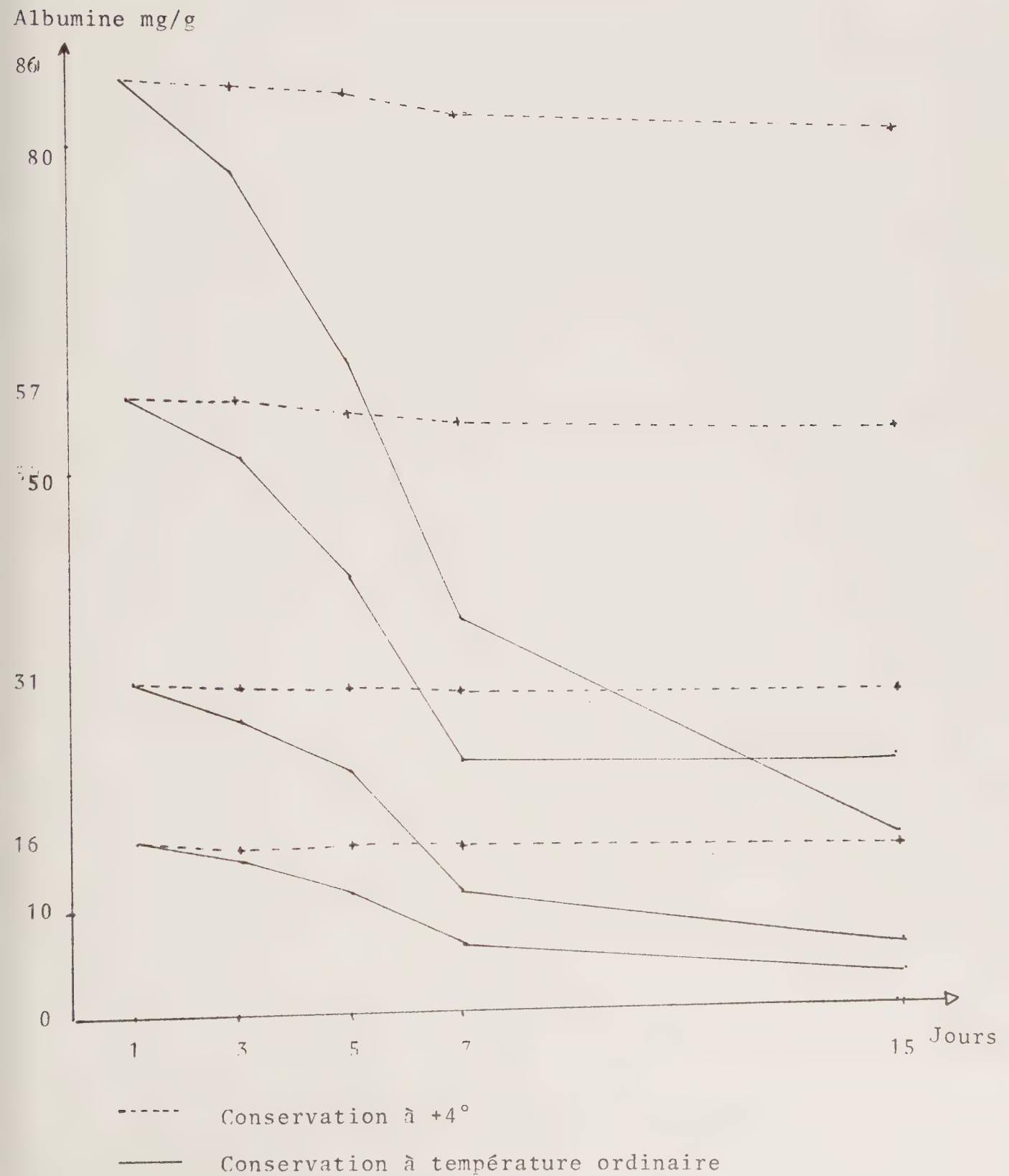
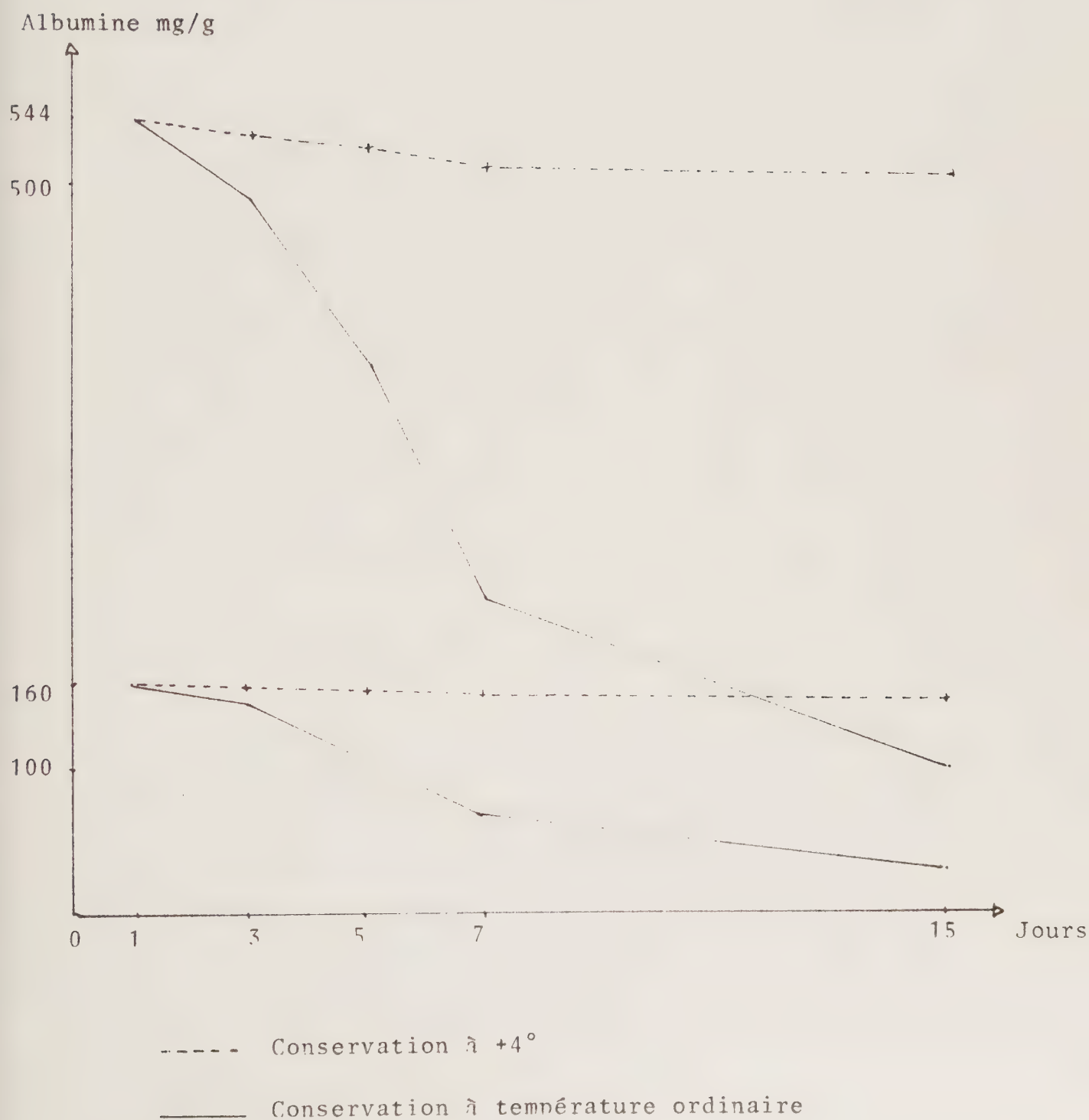


Tableau n° 11

Influence de la température de conservation
sur 2 échantillons de méconium en dilution

Enquête personnelle



- il existe une relative conservation du taux initial lorsque l'échantillon est à $+4^{\circ}$,
- et un effondrement de ce taux pour la conservation à température ordinaire, mais survenant surtout après le troisième jour.

Nous avons évalué le pourcentage moyen de diminution du taux initial en fonction du temps et selon le mode de conservation:

Temps en jours	Diminution du taux initial d'albumine %	
	Température ordinaire	$+4^{\circ}$
J 3	10,1 %	1,1 %
J 5	30,4	2,9
J 7	59,0	5,3
J 15	81,0	6,3

Ces résultats amènent quelques remarques:

1. Nous ne connaissons pas le taux initial réel de l'albumine dans les méconiums étudiés. La première analyse de ce taux est bien faite sur le premier méconium émis, mais il s'est passé un certain nombre d'heures entre l'émission du méconium à la Maternité et son analyse au Laboratoire. Nous ne pouvons déterminer la forme exacte de la courbe pendant le premier jour. Ceci étant admis, les remarques suivantes ne tiennent compte que de l'évolution du taux d'albumine par rapport à son taux initial observé. Par ailleurs, il s'agit de dilutions de méconium.

2. La conservation du méconium à +4° est tout à fait satisfaisante pour l'étude de l'albumine.

En général, les méconiums nous parviennent en 1 à 2 jours pour les Maternités proches du Laboratoire, 3-4 jours pour les Maternités plus éloignées.

Si la conservation est bonne, le taux d'albumine n'a baissé que de 2,9 % du taux initial.

La différence obtenue est minime et permet d'analyser de façon valable le taux d'albumine par immunodiffusion.

3. A température ambiante, il y a une diminution de 10 % en 3 jours. Cette valeur est assez importante, mais nous permet quand même de retenir comme valable l'étude de méconiums nous parvenant au bout de 1 ou 2 jours après une conservation plus ou moins efficace.

4. Les résultats que nous obtenons sont différents de ceux de HELLSING et KOLLBERG:

A température ordinaire, ces auteurs ne retrouvent que 25 % du taux initial d'albumine au bout de 48 heures, contre 90 % dans notre étude au bout de 72 heures. Cette différence tient peut-être aux méthodes d'étude:

Nous avons étudié des méconiums pathologiques sans les modifier, HELLSING et KOLLBERG ont étudié des méconiums normaux auxquels ils ont ajouté une quantité connue d'albumine.

Nous devons donc être très exigeants sur les conditions du transport des échantillons de méconiums qui doivent être analysés dans un Laboratoire éloigné du lieu de prélèvement.

Si on prévoit un transport rapide (voiture ou même P et T), un emballage isotherme avec glace convient très bien.

Dans l'éventualité où un transport rapide ne peut être envisagé immédiatement, le méconium peut parfaitement être conservé à +4°, en attendant un transport ultérieur dans les conditions requises.

IV Résultats de l'enquête

Persuadés d'emblée que notre enquête ne pouvait pas être épidémiologique, il nous appartenait de tester la sensibilité et la spécificité de la méthode. Ceci nous a conduit à pratiquer, une fois les résultats du BM test connus:

- un contrôle qualitatif et quantitatif de l'albumine sur les méconiums suspects. (Laboratoire du Professeur REVOL, Hôpital Sainte-Eugénie, sous la Direction de I. GARCIA, Biologiste des Hôpitaux et de D. PERIAT, Attachée).

- un examen clinique complet et un test de la sueur chez les enfants suspects,

- et par une enquête minutieuse, la recherche de tests faussement négatifs.

Nous remercions tous les Chefs de Services de Pédiatrie de LYON qui nous ont autorisés à consulter leurs fichiers de diagnostic. Parmi les cas de mucoviscidose, nous avons retenu les cas ayant eu un BM test négatif et appartenant à la population que nous avons définie.

Nous exposons des résultats partiels établis après chaque étape de l'enquête, pour regrouper ensuite les résultats essentiels.

Il n'a pas été établi de distinction entre les nouveau-nés à terme et les prématurés dans l'établissement des résultats, mais il en est tenu compte dans leur interprétation. Le cas des prématurés est envisagé dans le chapitre suivant.

1. LES RÉSULTATS DU BM TEST À LA MATERNITÉ

1.1. Les Maternités de LYON

1.1.1. Population

Afin d'exprimer nos résultats par rapport à une population d'enfants choisie, nous définissons d'abord cette population.

Tous les chiffres que nous citons ici sont tirés directement des registres tenus par les Maternités concernées par l'enquête.

- 25 081 naissances ont été enregistrées pendant la période de l'enquête.

- Parmi ces naissances, il y a eu:

. 389 mort-nés, soit 1,55 %;

. 1 388 nouveau-nés envoyés directement dans une unité spécialisée de pédiatrie, soit 5,53 %.

Ce dernier pourcentage est inférieur à la valeur que nous aurions dû trouver: deux Maternités ne notent pas les hospitalisations de nouveau-nés sur leurs registres et il nous a été impossible d'en faire une évaluation.

Il est intéressant de comparer ces chiffres avec ceux de N. MAMELLE et B. LAUMON (90) établis pour l'année 1972 dans cinq Maternités lyonnaises qui font partie des onze Maternités de notre enquête.

Sur une population de 7 544 naissances:

- pourcentage de mort in utero: 0,94 %,

- pourcentage de mort pendant le travail: 0,39 %,

soit 1,33 % de mort-nés.

- pourcentage de nouveau-nés hospitalisés:

. avec transfert immédiat: 6,2 %,

. avec transfert différé: 1,9 %,

soit 8,1 %.

Compte tenu des réserves que nous avons formulées, ces résultats sont concordants.

Il y a donc eu 23 304 nouveau-nés susceptibles de subir le BM test.

1.1.2. Nombre de BM tests effectués

20 391 tests ont été faits en tant que screening.

Sur ce chiffre, 18 191 tests ont été comptés sur les cahiers remplis par les Puéricultrices dans les Maternités; les 2 200 autres tests ont été faits au Laboratoire sur les méconiums prélevés systématiquement dans deux Maternités ainsi que nous l'avons déjà précisé.

Il s'agit d'un dépistage parallèle à celui des Maternités et non d'un contrôle.

Nous incluons donc ce chiffre dans le chiffre global des BM tests effectués en Maternité.

87 % des tests ont été réalisés sur le nombre de tests réalisables.

Il y a eu 13 % de tests "oubliés".

Si nous définissons ces pourcentages par rapport au nombre de naissances:

- BM tests faits:	81,30 %
- Mort-nés:	1,55 %
- Nouveau-nés hospitalisés:	5,53 %
- Tests oubliés:	11,62 %.

1.1.3. Nombre de tests positifs

153 tests ont été lus positifs ou douteux sur les 20 391 effectués, soit 0,74 %.

Ils se répartissent de la façon suivante:

Lieu d'enquête	Nb de tests réalisés	Nb de douteux	Nb de positifs
Maternité	18 191	44	81
Laboratoire	2 200	23	5

Au total:

- . 153 tests positifs et douteux soit 0,74 %,
- . 86 tests positifs, soit 0,42 %,
- . 67 tests douteux, soit 0,32 %.

Le pourcentage de tests positifs ou douteux trouvés par les Maternités a nettement diminué au cours de la deuxième année d'enquête: il est passé de 0,98 % à 0,56 %.

1.2. Les Maternités périphériques

Nous remercions particulièrement les Obstétriciens et Pédiatres de ces Maternités d'avoir accepté de réaliser cette enquête et d'en suivre l'évolution.

Il n'est malheureusement pas possible de définir la population étudiée. Nous ne connaissons pas le nombre de naissances, de mort-nés, de nouveau-nés hospitalisés, et ces Maternités ont une très grande disparité géographique.

Nous donnons donc simplement les résultats des tests.
7 096 tests ont été effectués, dont
22 tests positifs et douteux, soit 0,31 %.

Nous ne connaissons pas la répartition exacte des résultats positifs et douteux; nous les considérerons comme positifs dans les résultats globaux.

1.3. Résultats globaux

L'absence de tout caractère épidémiologique des deux enquêtes nous autorise à grouper leurs résultats:

27 487 BM tests pratiqués	
108 tests positifs	0,39 %
67 tests douteux	0,24 %

2. LES RÉSULTATS DU LABORATOIRE

2.1. Généralités

Toutes les études sur le méconium sont effectuées dans le Laboratoire de l'Hôpital Sainte-Eugénie.

Le Laboratoire centralise les méconiums recueillis et réalise sur chacun d'eux:

- un contrôle qualitatif du taux d'albumine méconiale par le BM test et par une électrophorèse des protéines sur acétate de cellulose;
- un contrôle quantitatif de ce taux par immunodiffusion radiale selon la technique de MANCINI;
- d'autres analyses telles que l'étude du taux d' α_1 antitrypsine et celui des IgA par immunodiffusion radiale de MANCINI.

Cependant, les différents contrôles n'ont pas tous été effectués simultanément sur tous les méconiums transmis au Laboratoire.

Lors de la première année d'enquête, de nombreux tests positifs ou douteux nous ont été signalés par les Maternités. Mais certains méconiums n'ont pas été prélevés ou se sont perdus, et il n'a fallu compter que sur l'examen clinique de l'enfant pour confirmer ou infirmer le résultat du test.

D'autres méconiums ont bien été transmis au Laboratoire, mais n'ont été analysés que par la méthode d'électrophorèse des protéines.

Par la suite, l'analyse des méconiums suspects a été beaucoup plus systématique et complète grâce au contrôle quantitatif par la méthode de MANCINI. La connaissance du taux d'albumine méconiale rend d'ailleurs inutile la pratique de l'électrophorèse.

Ces remarques permettent d'expliquer la différence des nombres de méconiums étudiés par chacune des méthodes.

Ainsi, sur les 153 méconiums suspects dans les Maternités de LYON, le Laboratoire a réalisé:

- 76 BM tests de contrôle,
- 85 électrophorèses des protéines,
- 104 immunodiffusions radiales.

Afin de clarifier le texte, nous appelons "méconium suspect" tout méconium dont le BM test est positif ou douteux.

En ce qui concerne les Maternités périphériques, la plupart des méconiums suspects nous sont envoyés. Trois échantillons cependant ont été analysés par des Laboratoires locaux, une fois quantitativement, deux fois de façon non précisée.

Nous avons essayé de représenter graphiquement la distribution des divers examens sur les méconiums étudiés (Tableau n° 12).

2.2. Nombre de méconiums suspects adressés au Laboratoire

* 104 méconiums suspects sont adressés par les Maternités de LYON, sur les 153 signalés, soit 67,9 %. Nous incluons dans le chiffre global 104, les 28 méconiums suspects détectés au Laboratoire sur les 2 200 méconiums prélevés systématiquement dans deux Maternités.

Sur ces 104 méconiums suspects:

- 57 ont un test positif,
- 47 ont un test douteux.

Les 49 méconiums oubliés comprenaient 29 tests positifs et 20 tests douteux.

Tableau n° 12

Répartition des examens effectués au Laboratoire
sur les méconiums suspects

	Taux α_1AT : 74	
	Immunodiffusion : taux albumine 104 + 19	
	Electrophorèses 65 + 10	
	BM-tests de contrôle 76 + 15	
49 méconiums oubliés 5 analysés dans au- tres laboratoires 1 envoyé pour contrôle	Méconiums envoyés au laboratoire 104 + 19	
	Tests positifs et douteux à la "maternité" 153 + 22	dont 28 faits au labo ratoire

- 27487 BM-tests pratiqués

Le premier chiffre concerne les Maternités de LYON,
le second les Maternités périphériques.

* 19 méconiums venaient des Maternités périphériques.
Les résultats du BM test de la Maternité sont:

12 tests positifs,
5 tests douteux,
1 test indéterminé,
1 test négatif.

Dans ce dernier cas, il s'agit d'un nouveau-né dont un frère est décédé de mucoviscidose; il nous a été demandé un contrôle quantitatif de l'albumine.

Trois méconiums ont été analysés par des Laboratoires locaux.

* Au total, le Laboratoire a reçu 123 méconiums dont le BM test à la Maternité était:

69 fois positif,
52 fois douteux,
1 fois non précisé,
1 fois négatif.

2.3. Le BM test de contrôle effectué sur les méconiums suspects

* Les méconiums de LYON

Le Laboratoire a analysé 104 méconiums suspects, or 28 de ces méconiums ont été testés au Laboratoire. Nous ne recomptons pas ces BM tests dans le nombre des contrôles.

* Résultats du BM test de contrôle au Laboratoire:

52 tests négatifs,
17 tests douteux,
7 tests positifs.

- Comparaison des résultats du BM test
à la Maternité et au Laboratoire:

R. du BM test à Maternité \ Résultats du BM test Labo	Négatif	Douteux	Positif
27 douteux	19	8	0
49 positifs	33	9	7
76 tests	52	24	

Sur les 76 tests suspects de la Maternité, 24 sont retenus par le Laboratoire, soit 31,5 %. Il y a donc 68,5 % de tests non retenus.

• Les méconiums de la périphérie

Sur les 19 méconiums envoyés, le BM test de contrôle a toujours été fait, mais dans 3 cas il y avait une quantité insuffisante de matière (il s'agissait de 2 tests positifs et 1 douteux). Nous ne comptons pas ici le test négatif envoyé pour contrôle quantitatif.

- Résultats du BM test de contrôle au Laboratoire:

7 tests négatifs,
2 tests douteux,
6 tests positifs.

. Comparaison des résultats du BM test
à la Maternité et au Laboratoire

R. du BM test à Maternité \ Résultats du BM test Labo	Négatif	Douteux	Positif
5 douteux	3	1	1
10 positifs	4	1	5
15 tests	7	8	

Sur les 15 tests suspects à la Maternité, 8 sont retenus par le Laboratoire, soit 53,3 %.

* Au total 35,1 % des tests sont retenus par le Laboratoire.

* Ces résultats partiels appellent quelques remarques:

74,9 % des tests lus positifs ou douteux à la Maternité ne sont pas confirmés par le Laboratoire. Il y a donc un excès évident de résultats faux positifs.

S'agit-il uniquement d'un problème d'interprétation personnelle ?

Le méconium envoyé au Laboratoire est-il bien celui qui a été analysé à la Maternité ?

La composition protéinique du méconium n'a-t-elle pas été modifiée par une mauvaise conservation ou un transport dans de mauvaises conditions ?

2.4. Les résultats de l'électrophorèse des protéines

* 85 électrophorèses ont été réalisées sur des méconiums venant des Maternités de LYON.

Leurs résultats:

2 fois quantité insuffisante,
51 fois électrophorèse négative,
32 fois électrophorèse positive.

* 10 électrophorèses sur des méconiums venant des Maternités périphériques.

Résultats:

7 fois électrophorèse positive,
3 fois électrophorèse négative.

* Au total:

54 électrophorèses négatives,
39 électrophorèses positives,
2 électrophorèses avec quantité insuffisante.

* Etude comparative des résultats de l'électrophorèse par rapport à ceux du BM test de la Maternité

R. de l' électrophorèse \ Résultats du BM test	BM test douteux	BM test positif
Electrophorèse négative	25	29
Electrophorèse positive	20	19

Il y a donc 39 électrophorèses positives sur les 93 attendues, soit 41,9 %.

L'électrophorèse ne départage pas de façon significative les BM tests douteux des positifs:

. 44,4 % des BM tests douteux sont suivis d'une électrophorèse positive, alors que

. 39,5 % des BM tests positifs sont suivis d'une électrophorèse positive.

Ces pourcentages ne sont pas logiques.

Cette méthode ne nous semble présenter qu'un intérêt relatif pour le contrôle du screening dans la mesure où nous disposons d'un dosage quantitatif de l'albumine méconiale.

RYLEY, NEALE, BROGAN (117) trouvent la méthode d'électrophorèse sur acétate de cellulose "non suffisamment fiable".

Au cours d'une recherche de l'albumine sur 20 méconiums normaux et 2 méconiums d'iléus méconial, ils ont eu un problème d'identification pour le résultat d'un méconium normal: présence d'une bande très colorée avec une mobilité suffisamment proche de celle de l'albumine permettant une confusion.

Ce phénomène est rare et nous ne l'avons jamais observé.

2.5. Les résultats de l'immunodiffusion radiale

2.5.1. Le dosage de l'albumine méconiale

* 104 immunodiffusions sont faites sur les méconiums de LYON,

19 immunodiffusions sur ceux de la périphérie.

Nous exprimons ces résultats en plusieurs classes de concentration albuminique:

Albumine mg/g Lieu d'enquête	0i	0-5	5-20	≥ 20
Lyon	0	95	6	3
Périphérie	4	8	2	5
Au total 123 cas	4	103	8	8

Il est admis actuellement qu'il faut exiger un taux d'albumine méconiale supérieur à 20 mg/g pour envisager de poser le diagnostic de mucoviscidose.

Sur les 123 tests, 8 seulement sont retenus par l'immunodiffusion, soit 6,5 %.

- * Etude comparative des résultats de l'immunodiffusion radiale avec ceux du BM test à la Maternité:

Albumine mg/g BM test	0-5	5-20	≥ 20
Douteux	50	2	
Positif	53	6	8

Le BM test est toujours positif lorsque le taux d'albumine dépasse 20 mg/g.

Mais il existe une certaine inconstance dans les résultats du BM test pour des taux d'albumine intermédiaire entre 5 et 20 mg: 2 tests douteux, 6 tests positifs. Le test est 53 fois positif, alors que le taux d'albumine est inférieur à 5 mg !

Ces résultats paraissent rendre indispensable le contrôle du screening par une méthode quantitative.

$$2.5.2. \quad \text{Dosage de l'}\alpha_1 \text{ antitrypsine et etude} \\ \text{du rapport } R = \frac{\text{Albumine}}{\alpha_1 \text{ antitrypsine}}$$

* Cette étude a été faite 74 fois; nous classons les résultats en fonction des valeurs de R:

Lieu d'enquête \ R	2	2 .
Lyon	55	5
Périphérie	11	3
Au total	66	8

Le rapport R a été 8 fois supérieur à 2.

- * Etude comparative des résultats de
l'immunodiffusion par rapport aux valeurs de R:

Albumine mg/g R	0-5	5-20	≥ 20
2	56	5	3
2	3	1	4

Il y a eu 4 fois corrélation entre le taux d'albumine supérieur à 20 mg/g et R supérieur à 2; et 4 fois discordance entre ces deux valeurs.

Quels sont ces cas:

	NOM	Albumine mg/g	R	CLINIQUE
Corrélation entre: Alb. R	n° 1	28,1	13,11	Enfant à terme, pas de mucoviscidose
	n° 2	57	13	Mucoviscidose
	n° 3	502	4,7	Prématuré
	n° 4	161	6,1	Prématuré
Discordance Alb ≥ 20 R < 2	n° 5	34,2	1,60	Moelena néonatal
	n° 6	31,4	1,69	Prématuré Autopsie: pas de mucoviscidose
	n° 7	20,5	1,90	Prématuré
Discordance Alb. 5-20 R ≥ 2	n° 8	16,4	2,58	Prématuré. Moelena

Parmi les 4 cas de concordance entre les valeurs de R et les taux d'albumine, nous avons dépisté un cas de mucoviscidose; parmi les autres cas:

- 1 enfant est né à terme et va bien,
- 2 enfants sont des prématurés qui n'ont pas présenté ultérieurement de mucoviscidose.

Les 3 cas où l'albumine est élevée avec R inférieur à 2 correspondent à 2 cas de prématurité et 1 cas de moelena néonatal. Ces 3 enfants n'ont pas présenté de mucoviscidose.

Enfin, dans le dernier cas où R est élevé avec une valeur moyenne du taux d'albumine, il s'agit encore d'un prématuré ayant un peu de sang dans le méconium.

En somme, il nous semble que le rapport R ne joue pas un rôle absolu dans l'orientation du diagnostic de la maladie. Ceci a déjà été observé par RYLEY et coll. (118) à propos de 3 cas de mucoviscidose avec R inférieur à 2.

3. LES RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE CLINIQUE

3.1. Généralités

Cette enquête a pour but d'affirmer ou d'éliminer le diagnostic de mucoviscidose chaque fois qu'il y a doute après les résultats du Laboratoire.

Dans la première période de l'enquête, les résultats du Laboratoire étaient uniquement qualitatifs; nous avons demandé que tous les enfants ayant eu un test suspect à la Maternité soient vus cliniquement.

Dès que les résultats de l'immunodiffusion radiale nous ont été communiqués, l'examen clinique n'a été demandé que sur la foi de critères biologiques:

- taux d'albumine méconiale d'au moins 5 mg/g.

Nous avons volontairement étendu notre enquête clinique au-delà de la limite des 20 mg/g, afin de ne pas laisser passer un éventuel cas avec taux intermédiaire.

- rapport R (albumine sur α_1 antitrypsine) perturbé à plus de 2.

Certains nouveau-nés ont eu un test positif ou douteux à la Maternité, mais pour toutes raisons possibles, le méconium n'a pas été analysé. Ces enfants ont tous eu un examen clinique.

Dans l'enquête de LYON:

- 64 enfants ont eu un examen clinique, en général après l'âge de 1 mois,
- 12 familles n'ont pas répondu à la demande d'examen,
- 1 enfant est décédé à l'hôpital sans avoir eu d'examen spécifique,
- tous les nouveau-nés et prématurés hospitalisés ont bien évidemment été suivis médicalement.

En ce qui concerne les Maternités périphériques:

Les résultats du Laboratoire sont toujours transmis directement aux Maternités qui envoient un méconium suspect à analyser.

Les Pédiatres de ces Maternités ont donc revu les enfants chaque fois que le cas s'est présenté.

3.2. L'examen clinique comprend:

- un interrogatoire des parents à la recherche de toute pathologie chez les ascendants ou collatéraux de l'enfant, ainsi que chez l'enfant lui-même,
- un examen clinique complet,
- une radiographie pulmonaire,
- un test de la sueur.

3.3. Les résultats de l'examen clinique

4 enfants dont le BM test était très positif ont été immédiatement suivis cliniquement, et le diagnostic de mucoviscidose a été confirmé.

2 enfants qui présentaient un iléus méconial ont eu un BM test très positif.

Nous avons donc diagnostiqué 6 cas de mucoviscidose avec le BM test sur une population de 27 407 nouveau-nés. Nous obtenons une incidence de la maladie de: 0,21 %, et une fréquence de: 1/4 581.

Ce chiffre est inférieur à celui que nous attendions, mais il existe des facteurs d'erreur:

- la population n'était pas uniquement de race caucasienne,
- notre enquête n'est pas épidémiologique,
- il peut exister des cas non diagnostiqués par le BM test. Nous les avons recherchés par une enquête rétrospective.

4. L'ENQUÊTE RÉTROSPECTIVE

Avec l'accord des Chefs des Services de Pédiatrie de LYON (médicaux et chirurgicaux), nous avons pu connaître tous les cas de mucoviscidose diagnostiqués à LYON.

Parmi eux, nous avons retenu les cas des enfants nés dans les Maternités concernées par l'enquête, dans la période correspondante (Nov. 1973 - Déc. 1975) et qui avaient eu un BM test fait et lu négatif à la naissance.

Lorsque le résultat du test n'est pas mentionné dans le dossier pédiatrique de l'enfant, nous cherchons dans les "cahiers de BM test" de la Maternité de naissance si cet enfant a été testé ou non, et dans quelles conditions.

Un cas de mucoviscidose n'est vraiment retenu comme faux négatif qu'après vérification dans les "cahiers de BM test" du résultat à la Maternité.

Une recherche parallèle a été menée par les Pédiatres des Maternités périphériques.

Nous avons ainsi découvert 4 faux négatifs:

- . cas n° 1: prématuré de 1 mois, retard de croissance intra-utérin, poids de naissance de 2 550 g, diagnostic en période néonatale, pathologie digestive.
- . cas n° 2: hospitalisé à 2 mois pour insuffisance pondérale et pathologie pulmonaire.
- . cas n° 3: diagnostic évoqué en période néonatale et confirmé ultérieurement, antécédents collatéraux (premier enfant mort in utero de péritonite purulente) pathologie digestive.
- . cas n° 4: non précisé.

5. CONCLUSION

1) Sur une population globale de 32 177 nouveau-nés, 27 487 BM tests ont été pratiqués avec les résultats:

108 tests positifs soit 0,39 %,

67 tests douteux soit 0,24 %.

2) 123 de ces méconiums sont parvenus au Laboratoire où est effectué:

. un BM test de contrôle qui n'a retenu que 35,1 % de ces méconiums;

. une électrophorèse des protéines qui a été positive dans 41,9 % des cas, sans véritable concordance avec les résultats du BM test;

. une immunodiffusion radiale selon la technique de MANCINI pour le dosage de l'albumine:

- 8 méconiums ont plus de 20 mg/g d'albumine, dans ces 8 cas le BM test est positif,

- mais il existe 59 fois un BM test positif avec un taux d'albumine inférieur à 20 mg/g.

. une étude du rapport $R = \frac{\text{albumine}}{\alpha_1 \text{ antitrypsine}}$ après détermination du taux d' α_1 antitrypsine par immunodiffusion radiale:

- R a été supérieur à 2 avec un taux d'albumine pathologique dans 4 cas,

- les valeurs de R et du taux d'albumine sont discordantes dans 4 cas.

3) L'enquête clinique a confirmé le diagnostic évoqué par le résultat positif du BM test dans 6 cas de mucoviscidose.

4) L'enquête rétrospective a découvert 4 cas de tests faux-négatifs.

La fréquence de la maladie, observée dans notre enquête est de: 1/2 748.

En résumé:

27 487 BM tests réalisés
0,39 % de tests lus positifs
6 cas de mucoviscidose diagnostiqués
par le BM test
4 tests faux-négatifs

V Discussion et commentaires

1. RÉSULTATS DES AUTRES AUTEURS - (BM TEST)

A la suite de l'enquête de STEPHAN (Tableau n° 13)(129), de nombreux screenings par le BM test sont entrepris.

Dès la fin du mois de Mars 1974, 69 000 tests sont enregistrés, et 60 mucoviscidoses dépistées (Tableau n° 14)(131).

Ce chiffre paraît extrêmement important, mais on ne peut en tenir compte dans la détermination de la fréquence de la maladie: il s'agit d'une somme de résultats obtenus sur des populations non définies.

Certains ne concernent que des enfants à risque, c'est à dire: enfant présentant un iléus méconial, un syndrome du bouchon méconial, un méconium anormalement visqueux, ou enfin nouveau-né dont un membre de la famille est déjà malade.

Cependant, en regroupant les résultats obtenus sur des populations prises au hasard, on obtient: 34 300 nouveau-nés testés et 19 mucoviscidoses dépistées. La fréquence est alors: 1/1 800.

Citons les travaux de:

Auteurs	Année	Référence	Tableau
PROSSER, OWEN, BULL, PARRY	1974	101	15
RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY	1974	116	16
RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY	1975	118	17
KOLLBERG, HELLSING	1975	78	18
GOTTSCHALK	1976	56	p.117
KAISER, MORER, HAMMERSCHLAG	1976	73	19
PROSSER	1976	100	20
ROJO, CARRILES, GUERRA	1976	111	21

Tableau n° 13

STEPHAN (129), 1972.

- . Enquête du 1 Mai au 31 Décembre 1972
sur une population de 5 854 nouveau-nés
pris au hasard, dans 9 Services Univer-
sitaires d'Obstétrique.

- . Résultats:
 - 9 BM tests positifs
 - 6 fois confirmés par le test
de la sueur,
 - 2 cas d'atrésie intestinale,
 - 1 cas de moelena néonatal.

- . Pas de faux négatif connu.

Tableau n° 14

Premiers résultats mondiaux du "screening" néonatal
par le BM test (131)

Auteurs	Nombre d'analyses (approximatif)	Tests positifs confirmés par iontophorèse à la pilocarpine
BRAY, CARDIFF	4 000	4
BRUNS, MILWAUKEE	3 900	-
BUSCH, ROSTOCK	1 300	-
FAERO, OVLISEN, COPENHAGEN	4 700	1
GIUNTA, MILANO	10 500	8
GOETZ, VIENNA	2 500	1
GOTTSCHALK, DRESDEN	300	2
KAISER, BERN	2 100	1
KOLLBERG, HELLSING, UPPSALA	8 880	19
MANEKE, HANNOVER	7 000	2
PROSSER, NEWPORT	2 229	1
REDMOND, BELFAST	2 272	2
SEVENS-ROCMANS, BRUSSELS	800	-
SHWACHMAN, BOSTON	3 000	6
STEPHAN, ERLANGEN	7 000	7
TEMPANY, DUBLIN	3 500	2
TEN KATE, GRONINGEN	4 000	1
WOLF, KASSEL	1 000	3
	69 000	60

Tableau n° 15

PROSSER, OWEN, BULL, PARRY, SMERKINICH,
GOODWIN, DATHAN (101), 1974.

- . Enquête comparative menée à l'aide de 4 méthodes de détection de l'albumine méconiale, pendant 3 ans, sur 34 228 enfants (SSA test, immunodiffusion, BM test, Albustix) (1.01.1970 - 31.12.1973).
- . Résultats:
 - 2 229 BM tests effectués,
 - 2 216 tests négatifs,
 - 13 tests positifs: un seul est confirmé cliniquement.
- . Faux positifs: 0,6 %.
- . Faux négatifs: non précisé pour le BM test

Tableau n° 16

RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY (116), 1974.

- . Résultats préliminaires sur une population de 715 nouveau-nés.
- . Les méconiums sont étudiés avec le BM test puis une méthode d'immunoélectrophorèse.
- . Résultats classés en 4 groupes selon le diagnostic clinique:

	BM test	Albumine mg/g	α_1 AT mg/g	$\frac{\text{Alb.}}{\alpha_1 \text{ AT}}$
7 enfants malades	6 t. + 1 t. -	117 - 330 11	30 - 96 5	2,6 - 6,9 2,2
1 enfant apparemment sain mais sur 3 émissions méconiales:	test + test + test -	130 90 1,5	83 64 13,5	1,6 1,4 0,1
Enfants sains 17	10 t. - 7 t. D	9 - 21 11 - 38	27 - 130 20 - 83	0,10-0,41 0,14-0,53
Enfants sains 690	-	peu ou pas d'album.		

- . Faux positifs: 8 cas 1,1 % dont 9,7 % de tests douteux.
- . Faux négatifs: 1

Tableau n° 17

RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY (118), 1975.

- . Enquête effectuée pendant un an sur:
 - une population de nouveau-nés pris au hasard (30-40 % des enfants nés à Cardiff);
 - tous les enfants dont le méconium est suspect d'être riche en albumine; les méconiums sont envoyés par divers hôpitaux du Royaume.
 Au total: 2 325 nouveau-nés.
- . Les méconiums sont testés avec le BM test et analysés en cas de résultat positif, par immunoélectrophorèse et électroimmunodiffusion.
- . Résultats classés en 5 groupes selon le diagnostic clinique:

	Résultat BM test	Albumine mg/g	α_1 AT mg/g	Alb. α_1 AT
5 enfants avec iléus méconial	4 t. + 1 t. -	117 - 318 11	30 - 58 5	3,9 - 8,7 2,2
9 enfants malades sans iléus	2 t. - 7 t. +	8,4 et 10,8 193 - 379	68 et 80 14 - 96	0,10 et 0,17 2,6 - 20
34 enfants avec taux albumine un peu augmenté mais test sueur normal	4 t. + 12 t. D 18 t. -	40 - 257 8,5 - 67 10 - 21	74 - 84 2,8-112 20 - 130	0,5 - 3,4 0,1 - 3,0 0,1 - 0,67
2 274 enfants sains	tous -			
3 enfants ayant du sang dans le méconium		71, 73, 340. mg		

- . Faux positifs: 0,7 % dont 0,5 % de tests douteux.
- . Faux négatifs: 3.

Tableau n° 18

KOLLBERG, HELLSING (78), 1975.

- . Enquête effectuée entre le 1 Septembre 1971 et le 31 Décembre 1973 sur 2 populations de nouveau-nés:
 - 8 830 nouveau-nés pris au hasard dans 3 Maternités hospitalières,
 - 70 nouveau-nés à risque.

- . Les méconiums sont testés par immunodiffusion et par le BM test:
 - 5 756 BM tests sont effectués sur le premier groupe d'enfants,
 - 48 BM tests sont effectués sur le deuxième groupe d'enfants.

- . Résultats:
 - 47 tests positifs chez des enfants sains,
 - 7 tests positifs chez des enfants malades (CF)
 - 2 tests faussement négatifs.

Sensibilité du test (capacité à détecter la maladie):
78 %.

- . Faux positifs: 0,8 %

- . Faux négatifs: 2.

Tableau n° 19

KAISER, MORER, HAMMERSCHLAG (73), 1976.

- . Enquête menée dans 7 Hôpitaux de différentes régions de la Suisse, sur 8 617 nouveau-nés, soit 20 % de tous les enfants nés en SUISSE pendant cette période (1973-1975).

- . Résultats des 8 617 BM tests faits:
 - 64 tests positifs dont 16 seulement avec de l'albumine dans le méconium (dosage par immunoelectrophorèse de LAURELL),
13 fois, le diagnostic n'est pas confirmé: les taux sont de 0,2 à 136 mg/g d'albumine;
3 fois, le diagnostic est confirmé par le test de la sueur: les taux sont: 44,95 et 214 mg/g.
 - 1 test faux négatif, diagnostiqué à l'âge de 3 mois.

Tous les enfants dont le BM test est positif subissent un test de la sueur après 8 jours de vie.

- . Etude de 31 méconiums dont le BM test est négatif:
 - 20 fois le taux d'albumine est nul,
 - 4 fois le taux d'albumine est < 1 mg/g,
 - 4 fois le taux d'albumine est 1-2,75 mg/g.

- . Sensibilité du BM test: 98,9 % à 99,8 %
Sélectivité: 19 à 23 %

- . Taux faux positifs: 0,70 %

- . Faux négatif: 1

Tableau n° 20

PROSSER (100), 1976.

- . Enquête menée de Janvier 1970 au 31 Décembre 1975 pour étudier la valeur d'une augmentation de l'albumine méconiale en tant que screening néonatal de la mucoviscidose.

Plusieurs techniques sont utilisées:

- précipitation par l'acide trichloracétique,
- précipitation par l'acide sulfosalicylique,
- bandelette Albustix,
- test d'immunodiffusion,
- BM test: ce test est le seul employé depuis Janvier 1973.

- . Résultats:

Nombre de naissances	Nombre d'enfants testés	Nombre de mucoviscidoses diagnostiquées dans le secteur et la période considérés Rapports avec le résultat des tests		
71 142	62 008	43		
	soit	Test positif	Test négatif	Non testés
	88,5 %	22 dont 7 iléus soit 64 %	12	9

- . Taux de faux positifs avec le BM test: 0,06 %; la plupart des cas sont facilement éliminés grâce au rapport R.
- . Conclusion: L'étude de l'albumine méconiale ne dépiste que 64 % des cas de mucoviscidose, et ne constitue pas un test idéal pour le screening. Cependant en raison de sa simplicité, son coût, sa facilité de réalisation, l'absence d'autres méthodes comparables, son emploi reste justifié.

Tableau n° 21

ROJO, CARRILES, GUERRA (111), 1976.

- . Résultats préliminaires d'une enquête menée de Février 1975 à Février 1976 dans 8 Maternités Hospitalières de La Havane et 11 Maternités régionales.

Méthodologie: seul le premier méconium est utilisé:

- les Maternités régionales effectuent le BM test et envoient toutes les bandelettes réactives au Laboratoire central de La Havane où est faite l'interprétation.
- dans les Maternités de La Havane, le méconium est recueilli dans un sachet de matière plastique, conservé à +4°; les échantillons sont expédiés groupés dans des containers réfrigérés, accompagnés des renseignements cliniques concernant les enfants
- tout nouveau-né ayant un BM test positif a un test de la sueur entre 6 et 12 semaines de vie.
- le dosage quantitatif de l'albumine méconiale n'est pas encore réalisé.

- . Résultats: 10 132 nouveau-nés testés:

- 10 130 d'une population "au hasard":
 - 17 BM tests positifs,
- 2 enfants à haut risque: BM tests négatifs.

L'enquête clinique confirme 2 cas de mucoviscidose (dont 1 iléus méconial).

Parmi les autres BM tests positifs non confirmés par la clinique, on compte 10 prématurés et 2 moelena néonataux.

- . Taux de faux positifs: 0,15 %

- . Aucun cas de faux négatif connu à cette date.

2. LES RÉSULTATS FAUSSEMENT POSITIFS

Sont appelés ainsi les cas où le BM test est positif alors que l'enfant ne présente pas de mucoviscidose.

L'existence de ces faux positifs est apparue très rapidement lors de la première enquête de STEPHAN en 1972 (129): 1% dans les premiers mois, puis 0,5 %.

Dans les diverses enquêtes, le taux de faux positifs est pratiquement toujours compris entre 0,5 % et 1 %. Il est de 0,65 % dans la nôtre.

Nous distinguons 2 sortes d'explications à ce phénomène:

- des causes générales techniques,
- et des causes liées à une augmentation réelle du taux de l'albumine méconiale.

2.1. Les causes générales

2.1.1. La technique d'exécution du test est mauvaise: nous avons déjà soulevé ce problème qui ne trouve de solution qu'avec l'expérience du personnel.

2.1.2. Sa lecture est difficile

Il faut savoir exiger une couleur bleu foncé intense sur la partie réactive de la bandelette.

Ce cas est rare, alors qu'on observe de façon relativement fréquente une coloration bleu clair parfois uniforme qui en impose, si l'on manque d'assurance, pour un résultat positif.

De plus, l'attitude générale du personnel est qu'il vaut mieux signaler un test "douteux" que laisser passer un test positif.

Ceci explique nos résultats:

- 71 tests douteux, soit 0,26 %
- 108 tests positifs, soit 0,39 %.

2.2. Les causes liées à une augmentation du taux d'albumine méconiale

L'étude quantitative du méconium par immunodiffusion radiale ou une autre technique est indispensable pour individualiser ces causes.

Dans l'étude de KOLLBERG et HELLSING (1975, Tableau n°18), 35 méconiums contenaient plus de 20 mg/g d'albumine.

Le tableau n° 22 résume ces résultats en fonction du diagnostic clinique posé pour ces enfants.

2.2.1. Les prématurés

EGGERMONT (35) montre en 1966 cette augmentation du taux des protéines dans le méconium des prématurés.

GOTTSCHALK (55) réalise en 1973 une enquête avec le BM test sur 150 prématurés: 5 % des méconiums donnent une coloration bleue nette à la bandelette, mais jamais vraiment typique; dans la plupart des cas, le taux d'albumine est inférieur à celui des cas de mucoviscidose.

Pour KOLLBERG (78), lors d'une enquête sur 5 000 tests, 2 faux positifs ont été trouvés chez des prématurés en 1974, et 13 cas en 1975 (Tableau n° 22), l'albumine variant de 29 à 420 mg/g.

Nous avons effectué une enquête systématique sur tous les prématurés hospitalisés dans un Service de Néonatalogie de LYON (Service du Professeur GILLY, Hôpital Sainte-Eugénie).

81 prématurés sont testés par le BM test.

Les résultats de l'immunodiffusion sont les suivants:

Albumine mg/g	0 - 5	5 - 20	≥ 20
Nombre de cas	70	7	4

4,9 % des prématurés ont plus de 20 mg/g d'albumine méconiale et 13,5 % ont plus de 5 mg/g.

L'étude des méconiums successifs dans les 4 cas où l'albumine dépasse 20 mg/g donne les résultats suivants:

CAS N° 1			CAS N° 2		
BM test	Albumine mg/g	R	BM test	Albumine mg/g	R
Positif	600	19,5	Positif	169	1,72
"	580	12,5	"	170	1,77
"	410	12	"	114	4,06
"	350	9,4	"	10	0,167
"	292	10,1	Douteux	1,84	1,80
"	278	8,9	Négatif	$< 0,01$	
"	320	8,8			
"	176	5,5			
"	271	4,65			
"	146	6,5			
"	118	2			
CAS N° 3			CAS N° 4		
BM test	Albumine mg/g	R	BM test	Albumine mg/g	R
Positif	169	20,2	Négatif	37	0,72
"	182,5	18	"	1,01	0,12
"	26,4	2,44	"	2,39	0,08
"			"	1,41	0,66
"			"	$< 0,01$	

. Le Cas n° 1 est un prématuré de 34 semaines, pesant 1,940 Kg à la naissance. Il a présenté un ictère par incompatibilité sanguine et a été exsanguinotransfusé. Deux tests de la sueur sont négatifs. Le développement neurologique est normal.

. Le Cas n° 2 est un prématuré de 31 semaines pesant 880 g à la naissance. Il a présenté un ictère à bilirubine libre puis bilirubine mixte. Il est décédé et l'examen anatomopathologique n'a décelé aucune lésion évoquant la mucoviscidose.

. Le Cas n° 3 est né à 36 semaines avec un poids de naissance de 2,7 Kg. Il a présenté une détresse respiratoire néonatale. Le test de la sueur est négatif.

. Le Cas n° 4 est né à 30 semaines, pesant 1,360 Kg. Il a présenté une maladie des membranes hyalines. Le test de la sueur est négatif.

Le BM test est positif dans tous les cas où l'albumine est supérieure à 10 mg/g, sauf pour le cas n° 3: le BM test est NEGATIF avec un taux d'albumine à 37 mg.

Nous reverrons ce problème dans le paragraphe suivant.

L'étude du rapport R ne nous a pas apporté plus d'orientation que dans l'enquête screening: dans 2 cas (n° 1 et 3), R est régulièrement élevé au-dessus de 2, atteignant même des valeurs de 20.

Il y a environ 10 % de prématurés parmi les nouveau-nés. Si nous comptons que 5 % d'entre eux auront une albumine augmentée au-delà de 20 mg/g, nous obtenons un pourcentage de 5 % sur la population globale.

Tableau n° 22

Diagnostic des enfants ayant
plus de 20 mg/g d'albumine méconiale
Etude sur 8 900 nouveau-nés
D'après KOLLBERG-HELLSING (78) (1975)

Diagnostic	Screening dans la population	Enfants suspects cliniquement	TOTAL	Concentrations mg/g
Mucoviscidose	3	14	17	22; 35; 39; 44; 62; 70; 74; 77; 80; 160; 200; 280; 310; 330; 350; 400; 720
Prématurés:				
- sans troubles gastro-intestinaux	7	1		29; 33; 42; 63; 67; 100; 210; 420
- avec:				
moelena,	3			
atrésie duodénale,		1		
atrésie jéjunale		1		
Enfants à terme, mais petits pour l'âge avec atrésie anale, malabsorption	2	1	3	52 80; 290
Enfants à terme en bonne santé	2		2	20; 42

2.2.2. Présence d'un moelena néonatal

BULL, GLADWIN, GRIFFITHS (12) étudient en 1974 420 échantillons de méconium par immunodiffusion radiale.

3 échantillons contenant respectivement 40,51 et 155 mg/100 ml d'albumine, montrèrent la présence de sang.

De même, KOLLBERG et HELLSING (77) observèrent en 1972 sur un dépistage de 2 073 nouveau-nés: 4 cas d'albumine supérieure à 20 mg:

- 2 cas de mucoviscidose (22 et 160 mg/g),
- 1 moelena (150 mg/g),
- 1 enfant en bonne santé (mais 80 mg/g).

Dans notre enquête, nous avons retenu 7 fois la présence d'un moelena néonatal mis en évidence par une bandelette réactive (Hématest^{*}).

Nombre de cas	Albumine mg/g	Clinique
1	34,2	Cet enfant n'est pas porteur de mucoviscidose. R = 1,59
6	de 0,69 à 7,7	Ces enfants vont bien.

Dans 1 cas, la présence de sang a notablement augmenté le taux d'albumine, mais dans les 6 autres cas, elle n'a pas modifié de façon importante le résultat de l'immunodiffusion.

2.2.3. Les causes intestinales

- Atrésie intestinale: rappelons la première enquête de STEPHAN (Tableau n° 13) et l'enquête de KOLLBERG et HELLSING sur un groupe de 33 enfants "à risque" (77):

8 cas avec plus de 20 mg/g d'albumine:

- . 6 iléus méconiaux,
- . 1 mucoviscidose,
- . 1 atrésie du grêle: albumine = 52 mg/g,
test à la sueur normal.

25 cas avec moins de 20 mg/g d'albumine:

- . 10 enfants de famille à risque,
- . 4 obstructions du grêle,
- . 11 méconiums visqueux.

KAISER, MARIOTTI, RENNERT (72) trouvent un BM test positif chez un enfant présentant une atrésie intestinale avec perforation.

- Les obstructions intestinales: les malabsorptions, certains syndromes accompagnés d'une diminution de l'activité protéolytique comme: :

- . l'insuffisance pancréatique avec neutropénie,
- . les malformations congénitales du pancréas,
- . la déficience en entérokinase intestinale.

2.2.4. Enfin, il existe des enfants en bonne santé non prématurés qui présentent une augmentation anormale de ce taux d'albumine.

Un tel cas est rapporté par KOLLBERG et HELLSING (77), taux d'albumine à 80 mg/g en 1972, 2 cas en 1975: le taux d'albumine à 20 et 42 mg/g.

RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY (116) étudient un cas de faux positif.

Le BM test a été d'emblée très positif, puis s'est négativé sur la 3ème émission méconiale.

L'étude quantitative de ce méconium montre:

Jour de vie	BM test Résultat	Albumine mg/g	$\frac{1}{\text{mg/g}}$ AT	$R = \frac{\text{Alb.}}{1 \text{ AT}}$
1°	+	130	83	1,6
2°	+	90	64	1,4
3°	-	1,5	13,5	0,1

Sur le plan clinique, cet enfant n'allait pas très bien à la naissance, mais malgré la toxicomanie à l'héroïne de sa mère, ne présentait pas de signe d'intoxication.

A côté de ce cas très particulier, les auteurs citent 17 autres enfants en bonne santé dont les taux d'albumine sont un peu augmentés:

- 7 avec BM test positif, l'albumine variant de 11 à 38 mg.
R de 0,14 à 0,53;
- 10 avec BM test négatif, l'albumine variant de 9 à 21 mg.
R de 0,10 à 0,41.

En somme, dans tous les cas cités où le taux d'albumine excède 20 mg/g, il est normal que le résultat du BM test soit positif. Il ne s'agit pas à proprement parler de faux positifs. Le test est spécifique d'une augmentation anormale de l'albumine méconiale, qui est trouvée dans la plupart des mucoviscidoses; il n'est pas réellement spécifique de cette maladie.

KOLLBERG et STEPHAN (76) trouvent au BM test:

- une sensibilité de 78 % (degré de capacité de détecter la mucoviscidose),
- une spécificité de 99,2 % (degré de capacité à détecter les cas sans mucoviscidose).

3. LES TESTS FAUSSEMENT NÉGATIFS

Ce sont tous les cas où le BM test est resté négatif alors que l'enfant testé est malade.

Dans ces cas, nous ne disposons pas toujours de l'analyse quantitative du méconium, sauf lorsque l'étude est faite simultanément et systématiquement par le BM test et l'immunodiffusion.

Chaque fois qu'il s'agit d'un screening de masse, le cas est retrouvé ultérieurement et nous n'avons plus de moyen de contrôle.

3.1. Les cas de la littérature

Le premier cas connu fait partie de l'enquête de KAISER, MARIOTTI, RENNERT (72) en 1973. Ce premier enfant d'une famille sans antécédents particuliers pesait 3 170 g à la naissance à terme; l'Apgar était à 6 à une minute, puis à 8 à cinq minutes. Il présenta des difficultés respiratoires avec acrocyanose dans les heures suivantes. Le BM test fut négatif sur le premier méconium émis.

Le tableau se précisa dans les premières semaines: hypotonie, apathie, acidose, oedème.

A 2 mois, il fut hospitalisé, et après un test à la sueur négatif, 2 autres furent pathologiques.

La fonction pancréatique de l'enfant fut analysée vers l'âge de 3 mois: il y avait une diminution pancréatique mais non insuffisance totale.

Sur l'ensemble des 69 000 tests réalisés par différents auteurs (Tableau n° 14), STEPHAN (131) rapporte 4 cas de faux négatifs:

- le cas de KAISER et collaborateurs cité plus haut,
- 2 cas dans l'enquête de PROSSER-OWEN-BULL (101),
- 1 cas dans l'enquête de SCHWACHMAN.

Il semble que les 3 derniers cas n'aient pas eu une augmentation typique de l'albumine méconiale.

Les 2 faux négatifs de PROSSER avaient été testés selon 4 méthodes: le BM test, le SSA test (test de précipitation par l'acide sulfosalicylique), l'immunodiffusion et l'Albustix. Les quatre méthodes ont rendu le même résultat.

Sur ces 4 cas, 2 avaient été envoyés par la poste.

Dans les enquêtes plus récentes, d'autres faux négatifs sont notés:

- 1 cas pour RYLEY, NEALE, BROGAN, BRAY (116) en 1974: le méconium contient 11 mg/g d'albumine, et le rapport R est à 2,2 (Tableau n° 16).

- 3 autres cas pour les mêmes auteurs (118) en 1975 (Tableau n° 17):

- . le premier cas est un iléus méconial dont le taux d'albumine est faible: 11 mg/g avec R à 2,2 (méconium récolté post mortem);

- . les deux autres cas sont des mucoviscidoses pour lesquelles l'albumine est à 8,4 et 10,8 mg/g, et R respectivement à 0,10 et 0,17.

Le diagnostic a été fait à l'âge de 2 mois; le rapport R sur les selles, à 3 dans ces cas, a été ramené à 0 par le traitement pancréatique substitutif.

- 2 cas pour KOLLBERG et HELLSING (78) en 1975 (Tableau n° 18):

Ces nouveau-nés font partie du "groupe à risque", mais les méconiums ont été envoyés par la poste sans aucun emballage particulier; ils ont ainsi séjourné 5 jours à température ordinaire.

Les BM tests ont été négatifs,

les taux d'albumine à 1,1 et 15 mg/g.

Les auteurs excluent ces 2 cas en raison de leur mauvaise conservation.

3.2. Les raisons de ces tests faussement négatifs sont encore à préciser:

Il existe des erreurs techniques humaines dans la réalisation du test sur un méconium dont le taux d'albumine est supérieur à 20 mg/g, mais aussi des oublis.

Ces facteurs ont certainement joué un rôle dans notre enquête.

Cependant, il existe des cas de mucoviscidose sans augmentation du taux d'albumine: ceci s'explique par une absence de l'insuffisance pancréatique rencontrée dans les cas habituels de mucoviscidose, ou une insuffisance pancréatique partielle.

La littérature retient 10 à 15 % de telles formes qui ne peuvent donc être mises en évidence par la recherche de l'albumine méconiale.

4. ORIGINE DES PROTÉINES MÉCONIALES

4.1. Le méconium constitue un magma de déchets accumulés pendant la vie foetale.

Ces substances proviennent de diverses origines:

- le tractus alimentaire secrète des mucoprotéines et antigènes de groupe sérique qui proviennent essentiellement de l'estomac et du duodénum.

- le liquide amniotique ingéré:

Les travaux de PRITCHARD en 1965 et 1966 (98) montrent la réalité de ce phénomène: il y a passage de cellules marquées au Chrome 51 ou à l'albumine 131, de la cavité amniotique où elles sont injectées, jusque dans le méconium de l'enfant.

500 ml de liquide amniotique sont déglutis par 24 heures en fin de grossesse.

Les ingesta du liquide amniotique comportent aussi bien des débris cellulaires que des protéines.

- le foie apporte au méconium des pigments biliaires dérivés de la bilirubine, dérivés qui lui donnent sa couleur brun-vert (il n'y a pas de stercobiline puisqu'absence de processus de putréfaction).

- le pancréas fait diminuer la viscosité de cet ensemble grâce aux enzymes protéolytiques qu'il élabore.

La production du trypsinogène par le pancréas exocrine débute vers la fin du 4ème mois de vie intra-utérine.

Les protéases dégradent la composante protidique des mucoprotéines.

4.2. Il existe deux théories pour l'origine des protéines méconiales:

- théorie de l'apport exogène des protéines en provenance du liquide amniotique dégluti par le fœtus,
- théorie de l'apport endogène des protéines au niveau du tractus digestif, en provenance du plasma fœtal.

Ces deux théories ne sont pas incompatibles, et il semble bien qu'elles interviennent toutes les deux.

PECAU et FEIGELSON (96) étudient les compositions protéiques des méconiums normaux et de mucoviscidoses afin d'élaborer une théorie.

Ils retrouvent 18 protéines dans le méconium de mucoviscidose sur les 20 présentes dans le sérum du cordon.

Le tableau n° 23 donne les concentrations de ces protéines dans 4 milieux:

- le méconium de mucoviscidose,
- le méconium normal,
- le liquide amniotique témoin,
- le sérum du cordon témoin.

Les résultats des études sur le méconium sont exprimés en mg/100 g de méconium frais, de façon à permettre la comparaison avec les résultats du sérum du cordon et du liquide amniotique exprimés en mg/100 ml.

On compte 25 g de matière sèche pour 100 g de méconium frais; coefficient correcteur: 0,04.

Ces auteurs admettent un apport exogène partiel, et un apport endogène (plusieurs protéines absentes du liquide amniotique sont présentes dans le méconium de mucoviscidose). Il leur semble aussi logique d'expliquer la différence des compositions protéiques entre méconium normal et méconium pathologique, par l'insuffisance pancréatique du fœtus de mucoviscidose.

La présence d'IgA sécrétoires dans le méconium de mucoviscidose, alors qu'elles sont totalement absentes normalement, démontre une origine endogène mais aussi témoigne d'une sécrétion foetale pathologique de la muqueuse intestinale.

Il semble donc qu'il y ait plusieurs origines des protéines, mais il n'est pas actuellement possible de déterminer quel est l'apport prépondérant.

Tableau n° 23: Comparaison entre les protéines du
méconium de mucoviscidose, du méconium
normal, d'un liquide amniotique normal
et d'un sérum du cordon normal.
Cf page suivante (p.108)

Protéines étudiées en mg/100	Méconium de mucoviscidose				Méconium normal			Liquide amniotique témoin	Sérum du cordon témoin
	N°1	N° 2	N° 3	N° 4	Min.	Max.	Moy.		
Préalbumine	110	32	82	65	50	105	74	0,3	13
Albumine	5500	6000	3700	5250			0	66	4000
Orosomucoïde	+	71	50	62			0	1,2	12
α_1 lipoprotéine			0	0			0	+	+
α_1 antitrypsine	1500	400	1050	525	390	1600	860	20	300
Gc-globuline			+	10			0	0,4	20
Antichymotrypsine			+	+			+	+	+
Céruléoplasmine		+	57	45			0	0,2	15
α_2 SH glycoprotéine			+	40			0	0,7	120
Haptoglobine			0	0			0	0	0
α_2 -macroglobuline				125			0	0	210
β -lipoprotéine			0	0			0	0	+
Hémopexine			12	62			0	0,5	15
β_{IA}/β_{IC} -globuline				62			0	0,5	90
β_{IE} -globuline				17			0	0	18
Transferrine		500	175	500			0	12	170
Fibrinogène				300			0	0	300 (plasma)
IgA	70	130	97	67			0	2,7	0
IgG	2000	600	1500	1875	390	2000	1300	28	1370
IgM	800	0	475	0			0	0	0
α -foetoprotéine		+		+			0	0	+
				9005			2234	132,5	6653

5. AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS D'UN SCREENING

5.1. Les inconvénients d'un tel dépistage sont d'ordre essentiellement psychologique (65).

L'identification de tous les cas de mucoviscidose dès la naissance va accroître considérablement le nombre de cas actuellement connus; un certain nombre d'enfants porteurs de la maladie ne se déclarent qu'après une à plusieurs années.

On aura donc créé dans ces familles un climat d'anxiété que ne peut vraiment calmer l'assurance d'un traitement curatif.

Nous ne pouvons proposer à ces parents qu'un traitement symptomatique et des mesures préventives.

Le problème est le même en ce qui concerne les cas de test douteux devant être contrôlés. 1 % des familles seront ainsi alarmées dans l'attente d'un résultat définitif.

Mais ces arguments ne semblent pas correspondre véritablement à l'état d'esprit des familles dont un (ou plusieurs enfants) est atteint d'une maladie familiale chronique grave. Un sondage d'opinion a été entrepris en 1975 en Allemagne Fédérale auprès de 275 familles ayant un ou plusieurs enfants myopathes (forme de la maladie de DUCHENNE) (85).

Cette enquête a soulevé un grand intérêt puisque 233 familles ont répondu dans un délai de trois semaines.

89 % d'entre elles se déclarent favorables à un diagnostic très précoce, dont 78 % dès la naissance.

Les principales raisons évoquées sont:

- pour assurer un traitement précoce à l'enfant,
- pour ne pas prendre le risque d'avoir un autre enfant malade; 67 % des parents auraient renoncé à avoir d'autres enfants s'ils avaient connu le diagnostic dès la naissance du premier enfant atteint,
- enfin pour organiser la vie de famille en fonction des soins à donner à l'enfant.

Les deux maladies ne sont évidemment pas superposables, mais elles ont certains points communs: la transmission familiale, l'atteinte précoce, l'évolution clinique invalidante, le pronostic.

Il semble que la population soit actuellement très sensibilisée au problème de ce type de maladie et sache dépasser les problèmes psychologiques pour ne considérer que les avantages d'un dépistage précoce.

5.2. Ces avantages sont plus nombreux (65) (140)

Nous avons vu l'intérêt du dépistage précoce avant l'installation des premières complications pulmonaires.

Ce dépistage systématique permet aussi d'apprécier de façon plus précise l'incidence de la maladie dans la population. La fréquence observée s'est considérablement modifiée lors des 30 dernières années. Cette fréquence de la maladie justifie les plus grands efforts de recherche pour les problèmes essentiels encore non résolus de la maladie.

L'identification de tous les cas permettra peut-être d'isoler différentes formes évolutives (pulmonaires ou digestives) nécessitant des traitements différents.

La possibilité d'appliquer dès que possible à ces malades des protocoles thérapeutiques standardisés peut permettre d'apprécier l'efficacité réelle de ces thérapeutiques.

Les divers principes de traitement ne sont pas actuellement admis par tous, et seuls de nombreux essais thérapeutiques systématisés et contrôlés peuvent faire admettre une ligne précise dans la conduite du traitement.

Il sera de plus possible de comparer les groupes d'enfants diagnostiqués après l'apparition des signes cliniques, et ceux mis en évidence par le screening.

Enfin, un argument concerne très directement les familles: le problème de la transmission de la maladie et l'éventualité d'avoir d'autres enfants atteints.

Le conseil génétique doit prendre place dans le cadre de la prévention et du traitement de cette maladie.

6. LES SCREENINGS PROPOSÉS

De nombreuses méthodes de screening néonatal sont proposées pour le dépistage de la mucoviscidose, et parmi elles:

6.1. Le test de la sueur

Sa spécificité et sa fiabilité en font l'élément fondamental du diagnostic de la maladie.

Les valeurs normales et pathologiques de la concentration sudorale en Chlore et Sodium sont admises aux taux de (R. GILLY) (51):

	Chlore (mEq/Kg)	Sodium (mEq/Kg)
Sujet normal	≤ 50	10 à 60
Mucoviscidose	≥ 80	80 à 160

Ce test est malheureusement difficilement applicable dans la période néonatale: l'immaturité des glandes sudoripares du nouveau-né est responsable dans les premiers jours de la vie:

- de l'hyposécrétion sudorale (pendant environ 1 mois),
- du défaut de réabsorption du Chlore et du Sodium au niveau des canaux excréteurs (3-4 jours).

Ceci explique des variations dans la composition sudorale (KOLLBERG) (76) des nouveau-nés: taux du Sodium et du Chlore bas immédiatement après la naissance, puis pic d'augmentation pendant le 2ème et 3ème jour, enfin diminution à un taux normal pendant tout le reste de la première année.

En pratique, on ne le réalise qu'à 1 mois, parfois à partir du 10ème jour.

La réalisation d'un test de la sueur demande de plus une technique assez complexe et longue. Il a donc fallu abandonner le test en tant que screening.

Sa simplification par la méthode ionométrique avec électrode spécifique suscite beaucoup d'intérêt. Il semble que cette méthode ne soit pas non plus utilisable avant 10 jours de vie et ne soit pas totalement fiable. Elle permet une mesure directe sur la peau sans passer par l'intermédiaire d'un Laboratoire; elle nécessite une technique précise, particulièrement pour les variations entre valeurs normales et sub-normales des taux de Sodium et de Chlore dans les premiers jours de vie (BRAY) (7).

FLENSBORG et STEINRUD déterminent les valeurs retenues chez les nouveau-nés (44):

Ion	6 H	1° jour	2.3.4.5 j	Après 5 jours
Na	41	-	51 à 55	diminution après 1 mois
Cl	-	47 à 51	valeurs sup. à 110	diminution jusqu'à 26

Il existe un coefficient de corrélation (0,91) déterminé sur 1 772 sujets (292 CF et 1 480 sains) entre:

- les tests de la sueur étudiés au Laboratoire sur le Chlore, la sueur étant obtenue par stimulation à la iontophorèse pilocarpine,

- et les tests étudiés avec une électrode sélective au Chlore effectués par stimulation de la sueur par chaleur et méthode d'iontophorèse pilocarpine.

Cette corrélation permet de penser que ce test peut être utilisé en tant que screening.

Cependant, il existe de nombreux facteurs qui limitent l'usage de ce test:

1) En 1971, sur 25 000 tests réalisés, il y a eu 5 % de faux positifs et 15 % de faux négatifs.

Le personnel qui réalise les tests doit être entraîné et consciencieux.

2) Possibilité d'interférence avec les autres ions ou les substances excrétées avec la sueur.

Modification de la solution de référence.

3) Existence de faux négatifs secondaire à des traitements par cloxacilline (59), aldostérone intra-musculaire (34).

4) Effets physiologiques du courant électrique:

Un sujet qui se tient sur un sol humide et reçoit un courant terminal de plus de 50v perçoit une intensité de 50 mA avec une sensation très désagréable.

Dans la méthode de iontophorèse pilocarpine, le courant est de 2, exceptionnellement 4 mA, mais il peut parfois produire une brûlure, de même que les produits acides au contact de la peau.

6.2. Le dosage de l'ion sodium par activation neutronique dans les ongles

Pour KOLLBERG (78), ce test manque totalement de valeur pendant la première semaine de vie.

Il montre que 50 % des nouveau-nés ont un taux de Sodium dans les ongles comparable à celui des enfants plus âgés atteints de mucoviscidose.

L'analyse des ongles se heurte de plus à la difficulté de prélèvement du matériel d'étude chez le nouveau-né et à sa contamination possible par la sueur ou le liquide amniotique in utero, riche en chlorure de sodium.

Il semble que ce test ne soit applicable qu'après l'âge de 6 mois, voire 1 an, et à certaines conditions préalables (pas de bain depuis 24 heures, pas de lavage de main depuis 12 heures...) (76).

Les valeurs pathologiques retenues pour la mucoviscidose sont supérieures à 160 mmol Sodium par kilogramme d'ongle; les valeurs inférieures à cette limite correspondent aux sujets sains et aux hétérozygotes.

Le test des ongles peut être un apport précieux pour le diagnostic de la maladie lorsque le test de la sueur reste douteux, mais il n'a pas de valeur absolue. Il peut facilement être centralisé.

6.3. Le dosage de l'ion sodium dans la salive

Mac GRADY et BESSMAN (89) montrent en 1955 l'augmentation du taux de sodium dans la salive parotidienne chez les sujets atteints de mucoviscidose.

La réalisation du dosage se fait grâce à une électrode à sodium appliquée près de l'orifice du canal de STENON; le résultat dépend d'un certain nombre de conditions techniques difficiles à obtenir chez un jeune enfant, pas de mouvement ni respiration pendant le dosage, sujet à jeun...

LAWSON (84), l'instigateur de cette méthode, obtient les résultats suivants:

- . témoin : $7,8 \pm 3,1$ mEq/l de sodium
- . mucoviscidose: 25,5 " "

Son étude de 8 500 tests effectués chez des enfants de 4 mois identifie 3 mucoviscidoses confirmées ultérieurement.

Malheureusement, ce test n'est valable qu'après l'âge de 4 mois et pendant les 5 premières années uniquement. Il est donc inutilisable pour un screening néonatal.

6.4. Etude de la trypsine et de la chymotrypsine dans les selles

Ce test est préconisé par ROBINSON et ELLIOTT (109 et 110) (1974-1976).

La trypsine et la chymotrypsine sont des protéases; elles réagissent avec un substrat pour libérer des produits hydrolysés et des ions hydrogène.

Les enzymes sont placés à leurs pH optima grâce à un tampon, puis on ajoute un indicateur et le substrat. Les ions hydrogène libérés abaissent le pH et provoquent la modification de couleur de l'indicateur.

Le test est effectué sur les selles prélevées au 4ème jour de vie; chaque Maternité dispose de cartes spéciales sur lesquelles le Personnel dépose un peu de selles de chaque enfant. Les cartes sont ensuite analysées dans un Laboratoire central. Si un test est positif, un deuxième test est effectué sur un autre échantillon de selles; ultérieurement, un test de la sueur confirme ces résultats positifs.

Sur 6 595 enfants testés, il y a eu 3 % de premiers tests positifs, 0,6 % sont retenus au deuxième contrôle.

3 cas de mucoviscidose ont été dépistés.

Il ne semble pas y avoir eu de faux négatifs.

6.5. Autres méthodes qualitatives d'étude des protéines méconiales proposées comme screening

GOTTSCHALK (56) compare 4 méthodes par l'étude de 10 111 nouveau-nés. Ces 4 méthodes sont:

1. le BM test méconium BOEHRINGER,
2. le strip test SEBNITZ qui utilise aussi l'ester éthylique de tétrabromophénolphtaléine comme réactif,

3. un test de laboratoire sur méconium sec, utilisant le même réactif et du papier filtre,

4. un test immunologique: mise en évidence de l'albumine par précipitation avec un sérum de lapin anti-albumine, et comparaison avec une solution de référence (20 mg/g d'albumine).

5 mucoviscidoses sont dépistées par ces 4 méthodes.

L'étude comparative des pourcentages de tests faux positifs, et des nombres de faux négatifs est résumée dans le tableau:

Méthode	Pourcentage faux positifs	Nombre faux négatifs Taux alb $\geq$ 20mg/g
BM test	1,4 %	24
Strip test	1,0	26
Test de diffusion de couleur	1,3	20
Test immunologique.	1	1

Deux cas de mucoviscidose confirmés ultérieurement ont des résultats discordants:

. l'un avec 16,5 mg/g d'albumine: les 3 tests colorimétriques sont négatifs, seul le test immunologique est positif,

. l'autre avec 3,5 mg/g d'albumine: les 3 tests colorimétriques sont positifs, et le test immunologique négatif.

Nous ne connaissons pas les modes de conservation des méconiums.

Parmi les faux positifs lus avec le BM test, 13 % seulement des échantillons ont plus de 20 mg/g; parmi les faux positifs du test immunologique, 33 % dépassent cette valeur.

Enfin, il y a un nombre élevé de tests faux négatifs sur des méconiums contenant plus de 20 mg/g d'albumine et testés avec les méthodes colorimétriques: 24 pour le BM test, 26 pour le Strip test, et 20 pour le test de diffusion.

Ce nombre est très faible (1) pour le test immunologique.

Pour GOTTSCHALK, le test immunologique donne de meilleurs résultats que les méthodes colorimétriques. Le problème est celui du transport des échantillons jusqu'au Laboratoire Central.

Il semble que la conservation du méconium séché, à température ordinaire sur papier filtre, ne modifie pas le taux d'albumine pendant 27 jours, ce qui permet un envoi postal des échantillons.

6.6. Etude des propriétés électriques du jejunum de rat en présence de sérum

SHWACHMAN (121) étudie depuis 1974 le jejunum de rat en présence de sérum grâce à une chambre de USSING.

La solution de bain est une solution de RINGER contenant 11 mM de glucose à pH 7,5. La différence de potentiel et la résistance sont mesurées toutes les 5 minutes pendant une heure.

120 sérums sont testés sans connaître leur origine qui est :

- 50 sérums de mucoviscidose,
- 40 sérums de sujets hétérozygotes,
- 30 sérums de sujets sains et malades (ayant une pathologie différente de la mucoviscidose).

Les résultats permettent de reconnaître tous les sujets porteurs de mucoviscidose et 90 % des sujets hétérozygotes, l'étude des 10 % non reconnus doit être modifiée.

Il s'agit d'un travail récent publié en Août 1975 qui semble ouvrir une nouvelle voie de recherche pour le dépistage de la mucoviscidose.

7. ETUDE DU COÛT D'UN SCREENING PAR LE BM TEST

Considérons une population de 10 000 nouveau-nés:

1. Le BM test doit être fait sur les 10 000 enfants; chaque test coûte 1,70 F (TTC).

2. Le taux de tests lus positifs et douteux à la Maternité est compris, dans toutes les enquêtes, entre 0,5 et 1 %. Il y a donc de 50 à 100 méconiums à analyser au Laboratoire par

- une recherche de sang (11,50 F)
- une immunodiffusion radiale pour le dosage de l'albumine (38,50 F)
- une immunodiffusion radiale pour le dosage de l' α_1 antitrypsine (30,80 F).

3. Le pourcentage d'immunodiffusions retenues dans notre enquête, c'est à dire révélant plus de 20 mg/g d'albumine est de 6,5 % (8 cas sur 123). Sur 10 000 nouveau-nés, nous aurons de 4 à 7 immunodiffusions positives, que l'on contrôle par un test de la sueur (23,10 F).

Le prix des examens de Laboratoire est celui qui est pratiqué dans les Hôpitaux publics (B = 0,77).

4. Au total:

	Nombre	Prix en Francs
BM test	10 000	17 000 F
Recherche de sang	50 à 100	578 à 1 155
Immunodiffusion - taux d'albumine - taux d' α_1 AT	50 à 100	3 465 à 6 930
Test de la sueur	4 à 7	92 à 161
PRIX GLOBAL		21 135 à 25 246

Nous ne faisons pas intervenir dans cette étude du coût d'un screening:

- les examens des prématurés,
- et les contrôles effectués systématiquement chez tous les enfants à risque, même si le résultat du BM test est négatif (analyse quantitative de l'albumine méconiale, test de la sueur).

VI Conclusion

Ce travail constitue un essai de dépistage néonatal de la mucoviscidose, dépistage qui repose sur la mise en évidence d'un taux élevé d'albumine dans le méconium par un test simple. La technique de ce test (B.M. test méconium) mise au point par les Laboratoires BOEHRINGER MANNHEIM est décrite.

L'enquête personnelle, toujours en cours, s'étend actuellement depuis 26 mois. Elle concerne 27 487 cas. Elle n'est pas épidémiologique et porte sur une population d'enfants a priori sans risques apparents de mucoviscidose, mais hétérogène et à haut pourcentage de transplantés.

Sur 27 487 BM tests réalisés, 108 (0,39 %) sont dits positifs et 67 (0,24 %) sont dits douteux; les tests positifs sont considérés comme mucoviscidoses possibles.

De tels enfants sont soumis à un double contrôle: contrôle clinique (avec obligatoirement un test de la sueur à la fin du premier mois) et contrôle biologique. Le méconium déclaré suspect à la Maternité est conservé à +4° et est adressé au Laboratoire où des tests qualitatifs et quantitatifs de contrôle sont réalisés. Parmi ces tests, l'électrophorèse simple et le dosage de l'alpha₁ antitrypsine ne nous paraissent pas avoir un intérêt particulier. Par contre, le dosage de l'albumine par immunodiffusion radiale est absolument nécessaire. Dans notre enquête, 123 immunodiffusions pour albumine ont été réalisées sur les 173 BM tests positifs ou douteux. Nous avons retenu comme mucoviscidoses possibles ceux dont le taux d'albumine est supérieur à 5 mg/g de méconium sec (8 cas), et comme hautement probables ceux dont le taux d'albumine est supérieur à 20 mg/g de méconium sec (8 cas). La réalisation de ces examens demande trois jours.

Il existe indiscutablement des nouveau-nés ayant un BM test positif et un taux d'albumine supérieur à 5 et même 20 mg/g, et qui ne sont pas des mucoviscidoses. Les étiologies en sont analysées, mais dans ce cadre la prématurité constitue une population privilégiée: une étude systématique nous a révélé que 4,9 % de prématurés ont un taux d'albumine dans le méconium supérieur à 20 mg/g et 13,5 % ont un taux supérieur à 5 mg/g.

Notre enquête décèle en définitive 6 mucoviscidoses en période néonatale. Cela représente un taux de fréquence de $1/4\ 500$, donc un taux très inférieur au taux attendu de $1/2\ 000$. Aussi, et au sein de la population étudiée par nous, nous avons recherché ceux qui, bien qu'ayant eu un BM test fait et noté négatif à la Maternité, se sont révélés secondairement être des mucoviscidoses. Nous avons ainsi retrouvé 4 faux négatifs, ce qui remonte la fréquence de la mucoviscidose dans le groupe étudié à $1/2\ 700$.

L'existence de faux négatifs est notée par beaucoup d'auteurs; les étiologies en sont analysées mais il nous apparaît que leur fréquence doit être abaissée en améliorant les conditions de réalisation technique du test à la Maternité.

Les inconvénients et les avantages du dépistage néonatal de la mucoviscidose sont envisagés, de même que son coût éventuel.

Dans l'état actuel, le BM test constitue indiscutablement le test le plus facile, le plus fiable, le moins onéreux pour un dépistage de masse. Pourtant, un certain nombre de mucoviscidoses nous échappe et cela justifie la prolongation d'enquêtes analogues et la recherche de possibilité pour en améliorer le rendement.

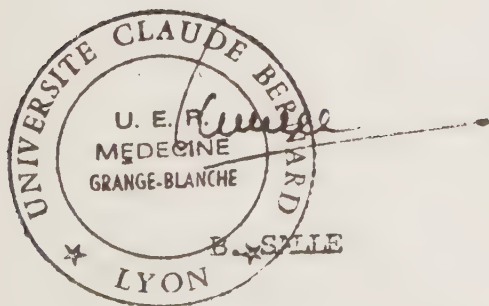
Le Président de la Thèse:
(nom et signature)

Gilly Robert
[Signature]

Vu et permis d'imprimer,
LYON, le 27 AVR. 1976

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
GRANGE-BLANCHE,

Le Président de l'Université
Claude Bernard
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales,



[Signature]
D. GERMAIN

Bibliographie

- 1 - ANDERSEN (D.H.)
Cystic fibrosis of pancreas and its relation to coeliac disease.
A clinical and pathologic study.
Am. J. Dis. Child., 1948, 56, p 344.

- 2 - ALTLAND (K), SCHMIDT (S.R.), KAISER (G), KNOCHE (W)
Demonstration of a factor in the serum of homozygotes and heterozygotes
for cystic fibrosis by a non-biological technique.
Humangenetik, 1975, 28, pp 207-216.

- 3 - BAUMANN (Th)
La mucoviscidose, maladie héréditaire.
Médecine et Hygiène, 1960, n° 478, pp 736-739.

- 4 - BENDER (S.W.), CONRAD (H. Chr.), BIENER (G.)
Screening auf Mucoviszidose.
(Cystische Fibrose /C F)
Mschr. Kinderheilk, 1971, 119, n° 12, pp 632-637.

- 5 - BOWMAN (B.H.), LOCKHART (L.H.), Mc COOMBS (M.L.)
Oyster ciliary inhibition by cystic fibrosis factor.
Science, 1969, n° 164, p 325.

- 6 - BRAY (P.T.)
Newborn screening for cystic fibrosis.
Arch. Dis. Child., 1973, 10, n° 48, p 825.

- 7 - BRAY (P.T.), CLARK (GCF), MOODY (G.J.), THOMAS (J.D.R.)
A perspective of sodium and chloride ion-sensitive electrode
sweat tests for screening in cystic fibrosis.
The Short Courses section, UWIST, Cardiff CF1, WALES. 1975, 57 p.

- 8 - BRAY (P.T.), CLARK (G.C.F.), MOODY (G.J.), THOMAS (J.D.)
Studies on the orion sweat chloride measuring system.
Communication personnelle. A paraître. 7è Congrès International de la
Mucoviscidose - Juin 1976 - PARIS.

- 9 - BRIMBELCOMBE (F.S.W.) and CHAMBERLAIN (J.)
Screening for cystic fibrosis.
Lancet, 1973, 2, n° 843, pp 1428-1431.

- 10 - BROWN (G.), OSHIN (A.), GOODCHILD (M.), ANDERSON (CR.)
Inhibition of sugar transport by plasma from cystic fibrosis patients.
Lancet, 1971, n° 18, pp 639-640.
- 11 - BRUNECKY (Z)
The incidence and genetics of cystic fibrosis.
J. Med. Genet., 1972, n° 1, 9, n° 1, pp 33-37.
- 12 - BULL (F.E.), GLADWIN (D.E.O.), GRIFFITHS (A.D.)
Immunochemical method for detection of albumin in human meconium.
Arch. Dis. Child., 1974, 49, pp 602-605.
- 13 - BUSCH (R.)
Zur Erfassung der Mukoviszidose beim Neugeborenen.
Kinderärztl. Prax., 1971, 39, n° 6, pp 268-271.
- 14 - BUSCH (R.)
Protein-Nachweis im Mekonium mit Teststreifen zur Erkennung der Mukoviszidose im Neugeborenenalter.
Deutsch. Gesundh., 1973, 28, n° 428, pp 1308-1311.
- 15 - CAIN (ARR.), DEALL (AM.), NOBLE (TC.)
Screening for Cystic Fibrosis by testing meconium for albumin.
Arch. Dis. Child., 1972, 47, pp 131-132.
- 16 - CARTER (C.O.)
Genetics of common disorders.
Brit. Med. Bull., 1962, 25, pp 52-57.
- 17 - CHEVREL (B.)
Early diagnosis of mucoviscidosis.
Nouv. Presse Méd., 1972, 1, p 1666.
- 18 - COMBY (Jean)
La maladie fibro-kystique des parenchymes glandulaires. Intérêt de l'empreinte digito-palmaire comme méthode de dégrossissage.
Etude génétique basée sur 41 familles.
Lyon, Imprimeries Réunies (Thèse Méd. Lyon, 1960, n° 140).

- 19 - CONOVER (J.T.), BONFORTE (R.J.), HATHAWAY (P.), PACIUC (S.),
CONOD (E.J.), HIRSCH HORN (K.); KOBE (F.B.)
Studies on ciliary dyskinesia factor in cystic fibrosis.
I - Biossay and heterozygote detection in serum.
Pediat. Res., 1973, 7, p 220.
- 20 - CRAWFURD (M. d'A.)
A genetic study, including evidence for heterosis, of cystic fibrosis
of pancreas.
Heredity, 1972, 29, p 126.
- 21 - CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION
New. Orleans, Louisiana, 14-15 May 1974
Psychosocial aspects of heterozygote detection in cystic fibrosis.
"Gap" Conference Reports - 9 p.
- 22 - CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION
Hilton Head, South Carolina, 6-7 February 1975.
Problems in sweat testing.
"GAP" Conference Reports - 17 p.
- 23 - DANES (B.S.), BACKOFEN (J.E.), ROUTELL (B.K.)
CF : Demonstration of an abnormality in MPS in cultured lymphoid
lines.
Biochem. Genet., 1974, 12, n° 5, pp. 359-366.
- 24 - DANES (B.), BEARN (A.)
A genetic cell marker in cystic fibrosis of pancreas.
Lancet, 1968, 1, p. 1061.
- 25 - DANES (B.), BEARN (A.G.)
Cystic fibrosis in the pancreas : a study in cell cultur.
J. Exp. Med., 1969, 129, p. 775.
- 26 - DANES (B.), BEARN (A.G.)
CF : distribution of mucopolysaccharides in fibroblast cultures.
Biochem. biophys. Res. Com., 1969, 36, n° 6, pp 919-924

- 27 - DAVIDSON (A.G.F.), ANDERSON (C.M.)
Diagnosis of cystic fibrosis.
Brit. Med. J., 1971, 4, p. 362.
- 28 - DEALL (A.M.)
Diagnosis of cystic fibrosis.
Brit. Med. Bull., 1971, 3, pp 639-640.
- 29 - DEALL (A.M.)
Diagnosis of cystic fibrosis.
Brit. Med. Bull.; 1971, 4, pp. 492
- 30 - DELECOUR (M.), MONNIER (J.C.), CODACCIONI (X.)
Connaissances actuelles sur la physiologie et la biochimie du
liquide amniotique.
Gyn. Obst. (Paris), 1970, 69, n°5, pp 511-525.
- 31 - DESJEUX (J.F.), MORIN (L.)
The effect of saliva and serum of cystic fibrosis on alanini
in vitro intestinal transport.
European Society for pediatric research abstracts 1970.
- 32 - DI SANT AGNESE (P.A.), DARLING (R.C.), PERERA (G.A.), SHEA (E.)
Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis.
Pediatrics, 1953, 12, p. 549.
- 33 - DI SANT'AGNESE (P.A.)
Esperienze americane sul trattamenti della fibrosi cistica.
1970, L XIII, pp 425-433.
(communication présentée à l'Atti Simposio Italiano sulla Fibrosi
Cistica - 23-24 mai 1970 - Verone)
- 34 - DI SANT'AGNESE (P.A.)
Effect of steroids on the sweat test.
GAP Conference on Problems in Sweat Testing, February 6.7 1975,
Hilton Head, S.C., p. 9.
- 35 - EGGERMONT (E)
Enzymic activities in meconium from human foetuses and newborns.
Biol. Neonate, 1966, 10, p. 266
- 36 - FANCONI (G.), BOTSZTEIN (A.)
Die Familiare Pankreas Fibrose mit Bronchietktasien.
Schweiz Med. WSCHR, 1944, pp 74-85

- 37 - FANCONI (G.), UEHLINGER (E.), KNAUER (C.)
Das Coeliaksyndrom bei Angeborenen Zystischer Pankreas Fibromatose und Bronchiektasien.
Wien. Med. Wschr., 1936, 86, p. 753.
- 38 - FALCHUK (Z.M.), TAUSSIG (L.M.)
IgA Synthesis by jejunal biopsies from patients with cystic fibrosis and hereditary pancreatitis.
Pediatrics, 1973, 51, n° 1, pp 49-54.
- 39 - FARBER (S.)
The experimental production of achylia pancreatica.
Am. J. Dis. Child., 1942, 64, p. 953.
- 40 - FEIGELSON (J.)
La mucoviscidose. 20 années de pratique courante et 51 observations personnelles.
Ann. Pédiat., 1973, 20, n° 1, pp 29-34.
- 41 - FEIGELSON (J.), PECAU (Y.)
Dépistage de la mucoviscidose par l'étude du méconium.
Ann. Pédiat., 1975, 22, n° 3, pp 233-236.
- 42 - FEINGOLD (J.), HENNEQUET (A.), JEHANNE (M.), FEIGELSON (J.),
TOUDIC (L.), QUINIOU (O.), BRIARD (M.L.)
Fréquence de la fibrose kystique du pancréas en France.
Ann. Génét., 1974, 17, n° 4, pp 257-259.
- 43 - FLEISHER (D.S.), DI GEORGE (A.M.), AUERBACH (V.M.), HUANG (N.N.),
BARNESS (L.A.)
Protein metabolism in cystic fibrosis of the pancreas.
Journal Pediatrics, 1964, 64, pp 349-356.
- 44 - FLENSBORG (W), STEINRUD (J)
Electrolytes in the sweat of normal neonates.
Acta Paediat. Scand., 1972, 61, pp 378-379.

- 45- FRASER (D.), CLAMP (J.R.)
The glycoprotein content of meconium.
Clin. Chim. Acta, 1975, 59, pp 301-307.
- 46 - FRITZ (M.E.), CAPLAN (D.B.), LEEVER (D.), LEVITT (J.)
Composition of parotid saliva on different days in patients
with cystic fibrosis.
Amer. J. Dis. Child., 1972, 123, pp 116-117.
- 47- FUNDAMENTAL PROBLEMS OF CYSTIC FIBROSIS and related diseases
Selected papers from the Sixth International Cystic Fibrosis
Congress - Washington - 1973 -
Edited by J. MANGOS, C. TALAMO, 401 p.
- 48- GEISLER (G.W.), BENDER (S.W.), MOHRMANN (C.)
Testing for heterozygosity in cystic fibrosis.
Experta Med. Int. Cong. Ser. No. 1971, 233, pp 75-76.
- 49- GEORGE (L.), NORMAN (A.P.)
Life tables for cystic fibrosis.
Arch. Dis. Child., 1971, 46, pp 137-143.
- 50- GILLY (R.)
La mucoviscidose. Donnée pathogéniques actuelles.
Ann. Pédiat., 1973, 20, n°1, pp 5-12.
- 51- GILLY (R.)
Numéro spécial consacré à la mucoviscidose.
Cah. Méd. Lyon, 1975, 51, n°II, pp 519-568.
- 52- GILLY (R.), HERMIER (M.), ROBERT (J.M.), CHALLAMEL (M.J.),
GERY (G.)
Etude Génétique de la mucoviscidose. (à propos d'une enquête
génétique personnelle portant sur 273 familles).
Arch. Franc. Pédiat., 1971, 28, pp 49-63.

- 53 - GLANZMANN (E.), BERGER (H.)
 Über Mekoniumileus
Ann. Paediat., 1950, n° 175, pp 33-48.
- 54 - GOTTSCHALK (B.)
 Erfahrungen mit dem Mucoviscidose Screening nach Stephan.
Dtsch. Gesundheitsw., 1973, 28, p 2049.
- 55 - GOTTSCHALK (B.)
 Notwendigkeit und Möglichkeiten von Massenscreening bei der
 Mukoviszidose.
Kinderärztlich Praxis, 1973, 41, n° 9, pp 373-382.
- 56 - GOTTSCHALK (B.)
 Four methods of mass Screenings in Cystic Fibrosis and results of
 10 000 newborns.
 Communication personnelle; A paraître. 7è Congrès International de la
 Mucoviscidose. Juin 1976 - PARIS.
- 57 - GREEN (M.N.), CLARKE (J.T.), SHWACHMAN (H.)
 Studies in cystic fibrosis of the pancreas protein pattern in
 meconium ileus.
Pediatrics, 1958, 38, pp 635-641.
- 58 - GREEN (M.N.), SHWACHMAN (H.)
 Presumptive tests for cystic fibrosis based on serum protein in meconium.
Pediatrics, 1968, 41, pp 989-992.
- 59 - GRIFFITHS (A.D.), BULL (F.E.)
 Anomalous sweat chloride levels in cystic fibrosis during antibiotic
 therapy.
Arch. Dis. Child., 1972, 47, p 132.
- 60 - GROUP for CYSTIC FIBROSIS, Verona, 5 th Annual Working, 1974.
 Distribution of protein in meconium from normal and cystic fibrosis infants.
Verona, Italy, 22-23 Avril 1974, 10 p.
- 61 - HARTEMANN (E.), CHAZALETTE (J.P.), CHEVALLIER (G.)
 Evolution et traitement de la mucoviscidose.
 Expérience du Centre de Soins de Giens.
Ann. Pédiat., 1973, 20, n° 1, pp 21-28.

- 62 - HELLSING (K.), KOLLBERG (H.)
Analysis of albumin in meconium for Early detection of cystic fibrosis.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1974, 33, pp 333-340.
- 63 - HENNEQUET (A.)
La Mucoviscidose.
Nouv. Presse Méd., 1973, 2, n° 28, pp 1879-1880.
- 64 - HENNEQUET (A.)
Mucoviscidose ou maladie fibro-kystique du pancréas.
Doc. Scient. Guigoz, 1973, 92, pp 2-15.
- 65 - HENNEQUET (A.)
Dépistage de la mucoviscidose.
JOURNEES PARISIENNES DE PEDIATRIE. Paris 21-22 septembre 1974.
Flammarion Médecine-Sciences - 1974 - 474 p.
- 66 - HOGGER (G.P.)
Die Verbesserung der Überlebensrate von Mukoviszidose-patienten
in den Jahren 1962-1974.
Helv. Paediat. Acta, 1975, 30, n° 2, pp 151-158.
- 67 - HUANG (N.), MACRI (C.), GIRONE (J.), SPROUL (A.)
Survival of patients with cystic fibrosis.
Amer. J. Dis. Child., 1970, 120, pp 289-296.
- 68 - HUREZ (D.)
L'électrophorèse en pratique médicale.
Monographies CHOAY n° 2.
- 69 - HUREZ (D.)
L'immunoélectrophorèse.
Monographies CHOAY n° 3.

- 70 - JOHNSON (A.M.), UMANSKY (I.), ALPER (C.A.), EVERETT (C.), GREENSPAN (G.)
Amniotic fluid proteins : Maternal and fetal contribution.
Pediatrics, 1974, 84, n° 4, pp 588-593.
- 71 - KAISER (D.), DRACK (E.), ROSSI (E.)
Effect of cystic fibrosis sweat on sodium reabsorption by the normal sweat gland.
Lancet, 1970, 1, P. 1003.
- 72 - KAISER (D.), MARIOTTI (M.), RENNERT (O.M.)
Mukoviszidose bei negativem BM-Mekonium-Test.
Helv. Paediat. Acta, 1974, 29, pp 51-54.
- 73 - KAISER (D.), MORER (H.P.), HAMMESCHLAG (P.)
Experiences of 3 years meconium screening in Switzerland.
Communication personnelle. A paraître 7è Congrès International de la Mucoviscidose - juin 1976 - PARIS.
- 74 - KLAGSBRUN (M.), FARREL (P.M.)
The methylation of transfer and ribosomal ribonucleic acid in human fibroblasts : normal methylation of ribonucleic acid in CF.
Pediat. Res., 1974, 8, pp 205-211.
- 75 - KNAUFF (R.E.), ADAMS (J.A.)
Meconium proteins and mucoproteins in meconium ileus.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., (New-York), 1968, 127, pp 801-804.
- 76 - KOLLBERG (H.)
Screening for Cystic Fibrosis by analysis.
I of albumin in meconium
II of sodium in nail clippings.
Communication personnelle. A paraître. 7è Congrès International de la Muciviscidose - juin 1976 - PARIS -
- 77 - KOLLBERG (H.), HELLSING (K.)
Screening for cystic fibrosis.
Arch. Dis. Child., 1972, 47, n° 255, p 836.

- 78 - KOLLBERG (H.), HELLSING (K.)
Screening for cystic fibrosis by analysis of albumin in meconium.
Acta Paediat. Scand., 1975, 64, pp 477-482.
- 79 - KOPITO (L.), SHWACHMAN (H.), ELIAN (E.)
Sodium, Potassium, Calcium, and Magnesium in Hair from neonates with
cystic fibrosis and in amniotic fluid from mothers of such children.
Pediatrics, 1972, 43, n° 4, pp 620-624.
- 80 - KOPITO (L.), SHWACHMAN (H.)
Mineral composition of meconium.
Pediatrics, 1966, 68, n° 2, pp 313-314.
- 81 - KRAMM (E.R.), CRANE (M.M.), SIRKIN (M.G.), BROWN (M.L.)
A cystic fibrosis pilot survey in three New England states.
Amer. J. Public Health, 1962, 52, pp 2041-2057.
- 82 - LANDSTEINER (K.)
Darmverschluss durch eingedicktes Mekonium Pankreatitis.
Zentralbl. Allg. Path., 1905, 16, p 903.
- 83 - LAWSON (D.)
Cystic Fibrosis : assessing the effects of treatment.
Arch. Dis. Child., 1972, 47, pp 1-4.
- 84 - LAWSON (D.), WESTCOMBE (P.), SAGGERS (B.)
Pilot trial of an infant screening programme for cystic fibrosis :
measurement of parotid salivary sodium at 4 months.
Arch. Dis. Child., 1969, 44, pp 715-718.
- 85 - Le Courrier de la Myopathie
n° février-mars 1976 - p. 3
Dépistage en Allemagne Fédérale
D'après une enquête du docteur Scheverbrandt.
- 86 - MONTAGNE (JC)
Le savoir faire de l'électrophorèse.
Imp. Dalex, Montrouge, 127 p.

- 87 - LOWE (C.U.), MAY (C.D.), REED (S.C.)
Fibrosis of the pancreas in infants and children, a statistical study of clinical and hereditary features.
Amer. J. Dis. Child., 1949, 78, pp 349-374.
- 88 - LYKKEGAARD (E.)
Classes of skin fibroblast metachromasia in cystic fibrosis correlated with growth parameters.
Dan. Med. Bull., 1975, 22, n° 5, pp 177-180.
- 89 - Mc GRADY (K), BESSMAN (S.P.)
The detection of mucoviscidosis by the determination of saliva chloride.
Amer. J. Dis. Child., 1955, 90, pp 610-611.
- 90 - MAMELLE (N.), LAUMON (B.)
Exploitation du dossier obstétrical informatisé des 5 maternités des Hospices Civils de Lyon.
Mathématiques Informatique Statistique biomédicales, 1975, n° 14, p. 58-70-75, Villeurbanne - SIMEP.
- 91 - MANGOS (J.A.)
A sodium transport inhibitory factor in the saliva of patients with cystic-fibrosis of the pancreas.
Pediat. Res., 1967, 1, pp 436-442.
- 92 - MEARNs (M.B.)
Treatment and prevention of pulmonary complications of cystic fibrosis in infancy and early childhood.
Arch. Dis. Child., 1972, 47, pp 5-11.
- 93 - MOREAU (F.)
Centre de soins pour enfants atteints de mucoviscidose à l'Hôpital Hélio-marin de Giens.
Problèmes d'organisation - Premiers résultats.
Lyon, Centre de Documentation et d'équipement pédagogiques (Thèse Méd. Lyon, 1965 n° 21).

- 94 - NATIONAL CYSTIC FIBROSIS RESEARCH FOUNDATION
Galveston, Texas, 10-12 oct. 1973.
Ciliary inhibitor factor of cystic fibrosis "Gap" Conférence
Reports - 20 p.
- 95 - NEWCOMB (R.W.)
IgA in meconium and cystic fibrosis.
Pediatrics, 1972, 49, p 783.
- 96 - PECAU (Y.), FEIGELSON (J.)
Compositions proteiques des méconiums et des selles de malades atteints de
mucoviscidose et de sujets normaux.
Arch. Franc. Mal. Appar. Dig., 1975, 5, pp 193-206.
- 97 - PITTMAN (F.E.), DENNING (G.R.), BARKER (H.)
Albumin Metabolism in cystic fibrosis.
Amer. J. Dis. Child., 1964, 108, n° 4, pp 360-365.
- 98 - PRITCHARD (J.A.)
Deglutition by normal an anencephalic fetuses.
Obstet. Gyn., 1965, 25, p 289.
- 99 - PROCEEDINGS OF PAEDIATRIC SOCIETIES - DANISH PEDIATRIC SOCIETY
Meeting April 30, 1971.
Acta Paediat. Scand., 1972, 61, pp 377-386.
- 100 - PROSSER (R.), OWEN (H.), BULL (F.), PARRY (B.), SMERKINICH (J.),
GOODWIN (H.A.), DATHAN (J.)
Screening for cystic fibrosis by examination of meconium.
Arch. Dis. Child., 1974, 49, n° 8, pp 597-601.
- 101 - RAO (G.J.), POSNER (A.), NADLER (H.L.)
Deficiency of kallikrein activity in plasma of patients with cystic fibrosis.
Science, 1972, 177, pp 610-611.
- 102 - PROSSER (R.)
Screening for Cystic Fibrosis in the newborn.
Communication personnelle. A paraître. 7è Congrès International de la
Mucoviscidose - juin 1976 - PARIS -
- 103 - RAPOPORT (S.), BUCHANAN (D.)
The composition of meconium : isolation of blood-group-specific polysacchari-
des.
Abnormal composition of meconium in meconium ileus.
Science, 1950, 112, pp 150-153.

- 104 - RAPOPORT (S.), BUCHANAN (D.)
Composition of meconium ; serological study of blood group specific substances found in individual meconiums.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 77, p 114.
- 105 - RENNERT (O.M.), FRIAS (J.L.), JULIUS (L.R.), LAPOINTE (D.)
The detection of the heterozygote and homozygote in CF by short term lymphocyte culture studies : a defect in RNA methylation.
Clin. Pediat., 1972, II, n° 6, pp 351-352.
- 106 - RENNERT (O.M.), JULIUS (R.L.), LAPOINTE (D.)
RNA methylation. A possible genetic marker in cystic fibrosis.
Pediatrics, 1972, 50, n° 3, pp 485-486.
- 107 - RICARD (CL.)
Liquide amniotique et prénatalogie.
Sandorama, 1971, 20, PP 4-9.
- 108 - ROBERT (J.M.), GILLY (R.), DEFRENNE (P.)
Intérêt du diagnostic et du traitement précoces dans la mucoviscidose. Considérations génétiques.
Ann. Chir. Infant., 1965, 6, n° 3, pp 251-254.
- 109 - ROBINSON (P.G.), ELLIOT (R.B.)
Rapid Semiquantitative tests for trypsin and chymotrypsin.
Application to screening for cystic fibrosis, enterokinase deficiency and pancreatic hypoplasia in neonates.
New-Zealand Med. J., 1974, 79, n° 517, pp 1024-1026.
- 110 - ROBINSON (P.G.), ELLIOTT (R.B.)
Cystic Fibrosis screening in the newborn.
Communication personnelle. A paraître. 7è Congrès International de la Mucoviscidose - juin 1976 - PARIS -
- 111 - ROJO (M.), CARRILES (M.), GUERRA (D.), HEREDERO (L.), PADRON (L.)
BM-test meconium research - CUBA 1975 - 1976.
Communication personnelle - A paraître. 7è Congrès International de la Mucoviscidose - juin 1976 - PARIS -

112 -

ROSSI (E.)

Nouvelles acquisitions dans le domaine de la fibrose kystique du pancréas.
Journées Parisiennes de Pédiatrie - 1972 - Paris, pp 80-85.

113 -

RULE (A.H.), BARAN (D.T.), SHWACHMAN (H.)

Quantitative determination of water-soluble proteins in meconium.
Pediatrics, 1970, 45, n° 5, pp 847-850.

114 -

RULE (A.H.), LAWRENCE (D.), HAGER (H.J.), HYSLOP (N.), SHWACHMAN (H.)

IgA : Presence in meconium obtained from patients with cystic fibrosis.
Pediatrics, 1971, 48, n° 4, pp 601-604.

115 -

RILEY (H.C.), NEALE (M.L.), BROGAN (D.T.), BRAY (P.T.)

Immunoelectrophoretic analysis of meconium from healthy neonates and babies suffering from cystic fibrosis.

Abstract J. Med. Microbiol., 1974, 2, p. 34.

116 -

RILEY (H.C.), NEALE (L.), BROGAN (T.D.), BRAY (P.T.)

Distribution of proteins in meconium from normal and cystic-fibrosis infants.

J. Med. Microbiol., 1974, 7, n° 2.

117 -

RILEY (H.C.), NEALE (M.L.), BROGAN (T.D.), BRAY (P.T.)

Plasma proteins in meconium from normal infants and from babies with cystic-fibrosis.

Arch. Dis. Child., 1974, 49, n° 11, pp 901-904.

118 -

RILEY (H.C.), NEALE (L.M.), BROGAN (T.D.), BRAY (P.T.)

Screening for cystic fibrosis by analysis of meconium for albumin and protease inhibitors.

Clin. Chim. Acta, 1975, 64, n° 2, pp 117-125.

119 -

SCHACHTER (H.), DIXON (G.H.)

A comparative study of the proteins in normal meconium and in meconium from meconium ileus patients.

Canad. J. Biochem., 1965, 43, 3, pp 381-398.

120 -

SCHUTT (W.H.), ISLES (T.E.)

Protein in meconium from meconium ileus.

Arch. Dis. Child., 1968, 43, n° 228, pp 178-181.

- 121 - SHWACHMAN (H.), ARAKI (H.), FIELD (M.)
Detection of cystic fibrosis and heterozygotes.
Lancet, 1975, 2, 7930, pp 372-373.
- 122 - SHWACHMAN (H.), REDMOND (A.), KON-TAIK KHAW
Studies in cystic fibrosis. Report of 130 patients diagnosed
under 3 months of age over a period of 20 years.
Pediatrics, 1970, 46, n°3, pp 335-343.
- 123 - SITZMANN (F.C.)
Mekonium untersuchung bei Verdacht auf Mukoviszidose.
Pädiatrische Praxis, 1972, 11, pp 85-88.
- 124 - SPOCK (A.), HEIK (H.M.C.), CRESS (H.), LOGAN (W.)
In vitro study of ciliary motility to detect individuals with
active cystic fibrosis and carriers of the disease.
Mod. Probl. Pediat., 1967, 10, n°1, p. 200.
- 125 - SPROUL (A.), HUANG (N.)
Diagnosis of heterozygosity for cystic fibrosis by discriminatory
analysis of sweat chloride distribution.
J. Pédiatr., 1966, 69, p. 759.
- 126 - STEINRUD (J.)
Cystic fibrosis : screening
Acta Paediat. Scand., 1972, 61, p. 378
- 127 - STEPHAN (U.), BRAUNING (C.), BUSCH (E.W.)
Screening for cystic fibrosis.
Lancet, 1975, 1, n° 7899, p167.
- 128 - STEPHAN (U.), BUSCH (E.W.)
Mucoviscidosis screening by a new method for testing albumin in
meconium : the meconium BM-Test.
Le Pédiatre, 1974, 46, n°10, pp 63-70.
- 129 - STEPHAN (U.), BUSCH (E.W.), DANNEMANN (R.)
Ein neuer Screening-Test auf Mukoviszidose : Nachweis des erhöhten
Albumingehaltes im Meconium.
Pädiatrische Praxis, 1973, n°12, pp. 487-490.

- 130 - STEPHAN (U.), BUSCH (E.W.), DANNEMAN (R.)
BM-Test Meconium : ein neuer Screening Test Zum Nachweis der Mukoviszidose beim Neugeborenen.
Klin. Pädiat., 1974, 186, n°1, pp 79-83.
- 131 - STEPHAN (U.), BUSCH (E.W.), KOLLBERG (H.), HELLSING (K.)
Cystic-fibrosis detection by means of a test-strip.
Pediatrics, 1975, 55, n°1, pp 35-38.
- 132 - STROBER (W.), PETER (G.), SCHWARTZ (R.)
Albumin metabolism in cystic-fibrosis.
Pediatrics, 1969, 43, n°3, pp 416-426.
- 133 - SZIBOR (R.)
Eine Modifikation der Zystische-fibrose-Screening Durch Albuminnachweiss im Mekonium.
Helv. Paediat. Acta, 1973, 28, n°4, pp 359-363.
- 134 - SZIBOR (R.)
Zystische Fibrose Screening mit Hilfe eines vereinfachten Nachtschweif testes.
Kinderärztl. Prax., 1973, 4, pp 161-165.
- 135 - SZCZEPANSKI (Z.)
Sweat bromide test ; a diagnosis tool for mucoviscidosis.
Z. Kinderheilk, 1972, 113, pp 297-302.
- 136 - TABLE RONDE SUR LE DEPISTAGE NEO-NATAL DE LA MUCOVISCIDOSE PAR LA RECHERCHE DE L'ALBUMINE DANS LE MECONIUM. 1973.
Paris. Dirigée par le Pr. HENNEQUET. Paris 17 nov. 1973 -
Le Pédiâtre, 1974, X, pp 71-76.
- 137 - THE INTERNATIONAL CYSTIC FIBROSIS (MUCOVISCIDOSIS) ASSOCIATION AND NATIONAL CYSTIC FIBROSIS RESEARCH FOUNDATION.
Rehovat, Israel, 1-4 July 1972.
Strategies for genetic disease.
"Gap" Conference Reports - 16 p.

- 138 - WALBAUM (R.)
La mucoviscidose est-elle transmise par gène autosomique récessif ?
Lille Méd., 1972, 17, n°7, pp 980-986.
- 139 - WARWICK (W.)
Computer studies in cystic fibrosis.
5 th Intern Cystic Fibrosis Conference Cambridge - 1969.
Cystic Fibrosis Trust ed., 1969, London.
- 140 - WARWICK (W.J.)
Perspectives on newborn screening for cystic fibrosis : review of
the past analysis of the present and projection for the future.
Communication personnelle. A paraître. 7° Congrès International de
la Mucoviscidose - Juin 1976 - Paris.
- 141 - WELCH (D.W.), ROBERTS (R.M.)
Complex saccharide metabolism in CF fibroblasts.
Pediat. Res., 1975, 9, pp 698-702.
- 142 - WIERSBITZKY (S.), DIERSCHKE (R.), GIESE (U.)
Erfahrungen mit der Immunglobulinbestimmung im Mekonium zur
Frühdiagnose der Mukoviszidose.
Kinderärztl. Prax., 1975, 43, n°8, pp 354-356.
- 143 - WILSON (G.B.), FUDENBERG (M.H.)
Studies on Cystic Fibrosis using isoelectric focusing.
I- An Assay for detection of cystic fibrosis homozygotes and
heterozygote carriers from serum.
Pediat. Res., 1975, pp 635-640;
- 144 - WILSON (G.B.), JAHN (T.L.), FONSECA (J.R.)
Demonstration of serum protein differences in cystic-fibrosis by
isoelectric focusing in thin layer polyacrylamide gels.
Clin. Chim. Acta, 1973, 49 pp 79-91.
- 145 - WISER (W.C.), BEIER (F.R.)
Albumin in the Meconium of infants with cystic fibrosis :
A preliminary report.
Pediatrics, 1964, 33, n°1, pp 115-119.
- 146 - YOUNG (D.M.), SCHWERT (G.W.), HARRIS (J.S.)
Viscosity and origin in meconium ileus.
Proc. Soc. Exp. Biol., 1958, 99, p. 673.

